

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

Доровских Екатерина Анатольевна

**Фармакогностическое изучение и стандартизация сбора ноотропного
действия**

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель

доктор фармацевтических наук, профессор

Ермакова Валентина Алексеевна

Москва - 2021

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА НООТРОПНОГО СБОРА	12
1.1. Общая характеристика ноотропных лекарственных средств.....	12
1.2. Применение и проблема безопасности ноотропных препаратов.....	15
1.3. Комбинированные ноотропные лекарственные средства	17
1.4. Лекарственные растения и сырье, обладающие ноотропной активностью.....	19
1.4.1. Листья гинкго двулопастного	19
1.4.2. Листья бадана толстолистного.....	21
1.4.3. Трава таволги вязолистной.....	23
1.4.4. Корни солодки	25
1.4.5. Плоды боярышника	27
1.5. Теоретическое обоснование состава ноотропного сбора	28
Выводы к главе 1	34
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	36
2.1. Объекты исследования	36
2.2. Методы исследования	37
2.2.1. Макроскопический и микроскопический анализ	37
2.2.2. Определение флавоноидов	38
2.2.3. Определение дубильных веществ	39
2.2.4. Определение полисахаридов	39
2.2.5. Определение экстрактивных веществ	39
2.2.6. Определение аминокислотного состава	39
2.2.7. Определение антиоксидантной активности	42
2.2.8. Определение арбутина.....	43

2.2.9. Изучение фенольного состава сбора методом ВЭЖХ-УФ	44
2.2.10. Определение минерального состава	46
2.2.11. Методы определения показателей качества сырья	47
2.2.12. Определение фармакологической специфической активности .	47
2.3. Статистическая обработка результатов, валидация методик	48
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ОСНОВНЫХ ГРУПП БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ.....	49
3.1. Изучение качественного состава ноотропного сбора	49
3.2. Определение флавоноидов.....	53
3.3. Определение дубильных веществ.....	61
3.4. Определение полисахаридов.....	62
3.5. Определение аминокислотного состава	62
3.6. Определение арбутина	66
3.7. Изучение фенольного состава сбора методом ВЭЖХ-УФ.....	68
3.8. Определение минерального состава	75
3.9. Определение антиоксидантной активности	78
Выводы к главе 3	78
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ХАРАКТЕРИСТИК ПОДЛИННОСТИ И НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА НООТРОПНОГО СБОРА	81
4.1. Изучение внешних признаков.....	81
4.2. Микроскопические признаки сбора и его компонентов.....	83
4.2.1. Бадана толстолистного листа	83
4.2.2. Гинкго двулопастного листа	84
4.2.3. Таволги вязолистной трава.....	87
4.2.4. Боярышника плоды.....	91
4.2.5. Солодки корни	92

4.2.6. Анализ мелкой фракции	94
4.3. Определение некоторых числовых показателей сбора и его компонентов	96
4.4. Определение экстрактивных веществ	98
4.5. Подходы к стандартизации ноотропного сбора.....	100
Выводы к главе 4.....	107
ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ	109
5.1. Изучение ноотропной активности. Лабиринт Морриса	110
5.2. Изучение ноотропной активности. Выработка условного рефлекса с положительным подкреплением	113
5.3. Изучение хронической токсичности ноотропного сбора	116
Выводы к 5 главе.....	117
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	119
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	122
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	124
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	141
Приложение А – Проект фармакопейной статьи.....	141
Приложение Б – Акт внедрения в учебный процесс	150
Приложение В – Акт внедрения	151
Приложение Г – Патент	152

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В современном обществе растет интеллектуальная нагрузка на работающее население, в том числе возрастает и давление стрессовых факторов. Во многих странах наблюдается увеличение продолжительности жизни и в связи с этим быстрое старение населения, следовательно, увеличивается количество людей пожилого возраста. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2015 г. доля людей старше 60 лет составила 12%. Деменция — синдром, поражающий, в основном, пожилых людей. Это синдром, при котором происходит деградация интеллектуальных способностей и мыслительных функций человека. Во всем мире насчитывается около 50 миллионов людей с деменцией, и ежегодно устанавливают почти 10 миллионов новых случаев этого заболевания.

Согласно опубликованным данным ВОЗ последние 15 лет ведущими причинами смерти в мире являются ишемическая болезнь сердца и инсульт, что составляет 15,2 млн (более 25%) из 60 млн. случаев смерти во всем мире. Пятое место в статистике общей смертности занимает болезнь Альцгеймера и другие формы слабоумия. В Российской Федерации летальность от нарушений мозгового кровообращения стоит на третьем месте в статистике общей смертности [23].

Для лечения и профилактики всех перечисленных состояний используются синтетические и растительные лекарственные препараты нейропротекторного действия, среди которых выделяют ноотропные препараты. Синтетические лекарственные средства ноотропного действия по своей терапевтической эффективности не всегда удовлетворяют требованиям клинической фармакологии, в связи с наличием ряда побочных эффектов: повышенная раздражительность, нарушение сна, экстрапирамидные расстройства, головокружение, диспептические расстройства, гепатотоксическое действие, побочные эффекты со стороны сердечно-сосудистой системы, а также многие другие, что ограничивает их применение. Растительные лекарственные препараты, как правило, нетоксичны и реже вызывают побочные явления и могут помочь решить эту проблему.

В связи с этим является перспективным поиск лекарственных растений и создание на их основе растительных сборов, которые отвечают требованиям эффективности и безопасности, предъявляемым в настоящее время к лекарственным препаратам (ЛП) и могут быть использованы в комплексной терапии вышеперечисленных заболеваний.

Степень разработанности темы. Большинство зарегистрированных в РФ препаратов растительного происхождения, обладающих ноотропной активностью, основаны на экстрактах листьев гинкго двулопастного. Разработкой ноотропных растительных сборов и композиций занимались многие исследователи в Сеченовском университете г. Москва, в Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН г. Улан-Удэ, в НИИФирМ имени Е.Д. Гольдберга г. Томск. Несмотря на то, что на некоторые составы были получены патенты, они не нашли практического применения. А большинство исследований было посвящено изучению только фармакологических свойств. Таким образом, на сегодняшний день на фармацевтическом рынке сбор ноотропного действия отсутствует. В связи с этим актуальным является теоретическое и экспериментальное обоснование состава ноотропного сбора, фармакогностическое изучение и создание проекта нормативной документации на сбор.

Цель и задачи исследования

Целью исследования является фармакогностическое изучение сбора ноотропного действия: теоретическое и экспериментальное обоснование специфической активности, изучение химического состава, разработка норм его качества и проекта нормативной документации.

Для выполнения поставленной цели необходимо решить ряд задач:

- Провести информационно-аналитическое исследование и теоретическое обоснование состава сбора;
- Изучить состав биологически активных соединений (БАС) сбора;
- Определить количественное содержание основных групп биологически активных соединений сбора;

- Изучить внешние и анатомо-диагностические признаки сбора, разработать характеристики подлинности;
- На основании результатов фармакогностического анализа обосновать некоторые показатели качества сбора и разработать проект нормативной документации на сбор;
- Определить фармакологическую специфическую ноотропную активность сбора.

Научная новизна. Разработан состав нового лекарственного средства (ЛС), а именно сбора ноотропного действия. Растительные композиции, такие как сборы, характеризуются комплексным эффектом воздействия. Специфическая ноотропная активность сбора теоретически обоснована и доказана доклиническими исследованиями. Созданный ноотропный сбор, как показали доклинические испытания на животных, повышает когнитивные функции, увеличивает объем и качество выполняемой умственной работы, является безопасным при длительном ежедневном применении. В состав сбора входят виды лекарственного растительного сырья (ЛРС), разрешенные к медицинскому применению, а также виды ЛРС, обладающие большим объемом исследований, опытом применения в медицинских целях и значительной сырьевой базой

Используя современные физико-химические методы анализа (высокоэффективная жидкостная хроматография, тонкослойная хроматография, спектрофотометрия, оптико-эмиссионная спектрометрия) изучен качественный состав и количественное содержание основных групп БАС: флавоноидов, аминокислот (свободных и связанных), фенологликозидов, дубильных веществ, полисахаридов, установлен минеральный состав. Разработана и валидирована методика определения содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в ноотропном сборе спектрофотометрическим (СФМ) методом. Изучены и научно обоснованы показатели качества сбора и методики их определения. Получены данные о внешних и микроскопических признаках сбора и его компонентов, установлены диагностически-значимые признаки для идентификации компонентов в составе сбора.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработанный сбор позволяет расширить номенклатуру отечественных ноотропных лекарственных растительных средств. Полученные экспериментальные данные по ноотропной и антиоксидантной активности позволяют расширить спектр нейропротекторного действия сбора. Описанные анатомо-диагностические признаки и данные о химическом составе основных групп БАС позволяют получить более полное представление о разработанном сборе и его компонентах. Результаты могут служить основой для разработки новых лекарственных форм сбора.

Полученные данные по макро-, микроскопическому анализу и по содержанию БАС использованы при разработке проекта нормативной документации на сбор. Разработанные методики позволяют использовать их для определения подлинности и контроля качества ноотропного сбора и его компонентов: листьев гинкго, листьев бадана толстолистного, травы таволги вязолистной, корней солодки и плодов боярышника.

Методология и методы исследования

Для всестороннего изучения темы, поднятой в исследовании, комплекс работ можно поделить на следующие блоки: информационно-аналитический, морфолого-анатомический, фармакогностический и фармакологический. В ходе выполнения работы использовались макроскопический, микроскопический, химический, хроматографический, спектрофотометрический, титриметрический, гравиметрический и фармакологический методы исследования.

Статистическая обработка результатов исследования была проведена в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) XIV изд. с использованием программы Microsoft Office Excel.

Основные положения, выносимые на защиту

- Результаты разработки состава сбора ноотропного действия;
- Результаты разработки характеристик подлинности и показателей качества ноотропного сбора;
- Результаты исследования качественного состава и количественного содержания

БАС сбора;

- Результаты разработки и валидации методики количественного определения флавоноидов в сборе спектрофотометрическим методом;
- Результаты изучения специфической ноотропной активности сбора на животных;
- Проект нормативной документации на ноотропный сбор.

Достоверность научных положений и выводов

В работе использовалось современное сертифицированное оборудование и поверенные приборы. Была проведена валидация методики, что свидетельствует о её достоверности и воспроизводимости. Достоверность полученных результатов подтверждается многократным повторением экспериментов и их статистической обработкой. Проведенное информационно-аналитическое исследование основано на многочисленных зарубежных и отечественных публикациях.

Апробация результатов исследования

Основные результаты по диссертационной работе доложены: на Международной научно-методической конференции «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы создания и исследования новых лекарственных средств» (г. Воронеж, ВГУ, 2018г.); на III, IV научно-практических конференциях «Международная интеграция в сфере химической и фармацевтической промышленности» (г. Москва, РУДН, 2018г., 2019г.); на II Международной конференции "Метаболомика и качество жизни" (г. Москва, ВИЛАР, 2019 г.); на международной научной конференции «От растения до лекарственного препарата», (г. Москва, ВИЛАР, 2020г.).

Апробация работы состоялась на межкафедральной научной конференции кафедр: фармацевтического естествознания, химии, фармацевтической и токсикологической химии им А.П. Арзамасцева и кафедры фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (16.12.20, г. Москва).

Личный вклад автора

Автору отведена первостепенная роль в выборе темы, объектов и методов исследования. Автор самостоятельно выполнил весь объем экспериментальной работы, его вклад является основополагающим на каждом из этапов исследования: постановка цели и задач, получение экспериментальных данных, их обсуждение, статистическая обработка, анализ и подготовка для публикаций и выступлений с докладами на научно-практических конференциях.

Внедрение результатов исследования

Результаты изучения химического состава БАС, характеристик подлинности ноотропного сбора и его компонентов, использованы в учебном процессе кафедры фармацевтического естествознания Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовского Университета).

Разработан проект фармакопейной статьи (раздел подлинность: внешние и микроскопические признаки, тонкослойная хроматография, качественные реакции; раздел испытания: числовые показатели, количественное определение) для сбора ноотропного действия.

Результаты изучения характеристик подлинности ноотропного сбора и его компонентов, внедрены в контрольно-аналитической лаборатории ООО Фирма «Здоровье».

На разработанный в ходе диссертационного исследования состав сбора был получен патент РФ на изобретение №2740897 «Сбор лекарственных растений ноотропного действия» заявка от 17.03.2020г.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, (п.2,3,6).

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки

Выполнение диссертационной работы проводилось в рамках плана и в соответствии с тематикой научно-исследовательской работы на кафедре фармацевтического естествознания Института фармации имени А.П. Нелюбина

ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по теме: «Фармакогностическое изучение лекарственного растительного сырья, лекарственных сборов, лекарственных форм из сырья и разработка методов их стандартизации с учетом влияния антропогенных факторов, оценки качества и сертификации».

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 140 страницах, включая приложение 154 страницы. Работа состоит из введения, обзора литературы (1 глава), 4 глав, посвященных экспериментальным исследованиям и обсуждению полученных результатов, общих выводов, списка литературы (152 источников, в том числе 34 иностранных), 4 приложений. Работа включает 34 таблицы и 29 рисунков.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 работ, из них 3 в журналах, рекомендованных ВАК, 2 в журналах, входящих в международные базы данных (индексируемых в Scopus). Получен патент РФ на изобретение №2740897 «Сбор лекарственных растений ноотропного действия» заявка от 17.03.2020г.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА НООТРОПНОГО СБОРА

1.1. Общая характеристика ноотропных лекарственных средств

Согласно определению ВОЗ: «Ноотропы — это фармакологические средства, оказывающие прямое активирующее влияние на обучение, улучшающие память и умственную деятельность, а также повышающие устойчивость мозга к агрессивным воздействиям гипоксии, травмам, интоксикации» [23]. Из этого определения следует, что в основе действия ноотропных препаратов лежит два основных принципа — влияние на интеллектуально-мнестические функции и церебропротекторные свойства, при отсутствии психомоторного возбуждения [99].

Концепция нейропротекции позволяет выделить два основных направления: первичную и вторичную нейропротекцию. Осуществление первичной протекции осложнено недостаточностью данных, объясняющих специфические морфо-функциональные основы механизма действия и самим определением задействованных в повреждении рецепторов. В связи с этим в основу действия большинства нейропротекторных препаратов положена вторичная протекция, которая направлена на уменьшение выраженности последствий от повреждений нервной системы [35].

Некоторые исследователи выделяют истинные ноотропы и ноотропоподобные средства. Истинные ноотропы обладают прямым действием с доминирующими мнестическими эффектами как в норме, так и при наличии повреждений нервной системы. В свою очередь ноотропоподобные средства обладают поливалентной комплексной активностью и оказывают действие при патологиях центральной нервной системы (ЦНС) [24].

Ноотропные препараты относятся к разным химическим группам и имеют неодинаковый механизм действия. В связи с этим сложно определить состав группы входящих сюда препаратов, и еще сложнее их классифицировать. В

обобщенном виде классификацию можно представить следующим образом (Рисунок 1.1) [47].

В основе терапевтического действия ноотропных препаратов лежит комплексное воздействие не на одну, а сразу на несколько систем и главным образом на нейромедиаторную. Можно выделить общие для группы препаратов следующие механизмы действия:

- Улучшают и нормализуют мозговое кровообращение и микроциркуляцию в ЦНС и сердце;
- Способствуют активации передачи нервного импульса на разных этапах, в том числе влияют на синаптическую передачу и на нейромедиаторы, такие как ацетилхолин, дофамин, норадреналин, серотонин и ГАМК, что приводит к повышению когнитивных функций и улучшению процессов обучения и памяти;
- Повышают энергетический обмен в клетках и тканях, в том числе в клетках головного мозга, увеличивают активность ферментов дыхательной цепи, стимулируют потребление и утилизацию глюкозы, синтез АТФ, белков и фосфолипидов;
- Оказывают мембраностабилизирующее действие [24, 112].

Широкую область применения данной группы препаратов обуславливает помимо непосредственно ноотропного, следующие виды действия:

- мнемотропное,
- анксиолитическое,
- вазовегетативное,
- антиастеническое,
- психостимулирующее,
- антиэпилептическое,
- антидепрессивное,
- адаптогенное,
- седативное,
- антидискинетическое [57, 117].

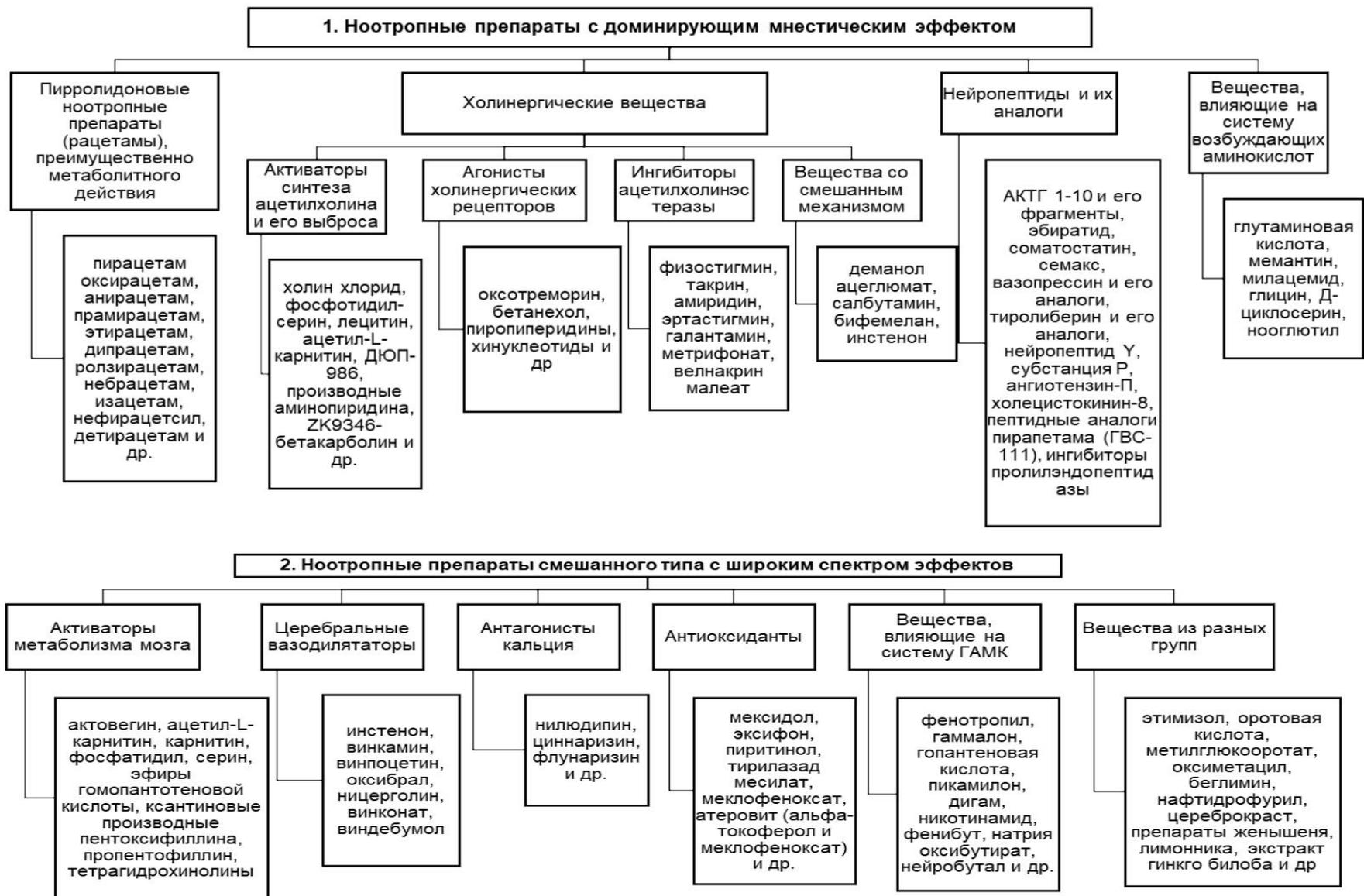


Рисунок 1.1 - Классификация ноотропных препаратов

1.2. Применение и проблема безопасности ноотропных препаратов

Ноотропным препаратам, как говорилось ранее, свойственно обладать широким спектром действия. Они разрешены к применению у здоровых лиц, в геронтологии и педиатрии. Ноотропы могут использоваться при восстановительном лечении и в процессе реабилитации при деменциях различного генеза, в том числе болезни Альцгеймера, при черепно-мозговых травмах, инсультах, нейроинфекциях, интоксикациях, в абстинентном периоде у больных наркоманией и алкоголизмом, при интеллектуально-мнестических расстройствах и нарушениях памяти, концентрации внимания и мышления. У здоровых лиц НЛС (ноотропные лекарственные средства) применяют при синдроме хронической усталости, после физических и психоэмоциональных нагрузок и для улучшения умственной работоспособности. Детям при нарушении развития и для лечения умственной отсталости. И у пожилых лиц для профилактики и лечения возрастных нарушений памяти и мышления [57, 112].

НЛС, в соответствии с общепринятым мнением, представляют собой одну из наиболее безопасных групп ЛП как среди нейропротекторных, так и в фармакологии в целом. Широкий спектр фармакологической активности, небольшое количество побочных эффектов и безрецептурный отпуск привели не только к широкому использованию ЛП этой группы, но и порой к необоснованному и неконтролируемому приему [15].

Среди наиболее распространенных и известных ноотропных препаратов и их побочных эффектов можно выделить следующие:

- пирацетам (нервозность, депрессии, тревога, галлюцинации, возбудимость, головная боль, тремор, тромбофлебит),
- церебролизин (агрессивное поведение, бессонница, генерализованная эпилепсия, аритмия, лихорадка, озноб)
- аминоксантины (головная боль, сонливость, тревога, головокружение, тошнота)

- периферические вазодилататоры: винпоцетин, ницерголин, нимодипин (перепады артериального давления, тахикардия, аритмия, нарушение сна) [15, 84].

В настоящий момент продолжается активная разработка новых нейропротекторных препаратов, которые должны сочетать в себе фармакологическую эффективность и безопасность. НЛС должны легко переноситься и не вызывать побочных эффектов достаточно долгое время, так как применения данной группы ЛС обычно предполагает длительный курс приема. При терапии неврологических заболеваний достаточно сложно избежать полипрагмазии, которая определяется необходимостью одномоментного воздействия как на ЦНС, так и на соматическую сферу [15, 91]. Из основных отрицательных последствий полипрагмазии следует отметить: возможность потенцирования известных побочных эффектов отдельных средств; возможность возникновения новых побочных эффектов; перекрещивание путей биотрансформации различных препаратов в организме, что приводит к значительному усилению или ослаблению их действия и в результате сложность подбора и соблюдения дозирования ЛП; высокая стоимость, особенно учитывая длительность лечения [18]. Поэтому при назначении лечения должно отсутствовать перекрестное взаимодействие с наиболее часто назначаемыми нейротропными средствами [15, 91].

Учитывая вышеизложенное, наряду с широкой областью применения и возможностью применения в педиатрии и гериатрии, некоторые ноотропные препараты могут вызывать серьезные побочные эффекты или даже быть токсичными для организма человека. Следовательно, в настоящее время существует проблема достаточности выбора наиболее эффективных и безопасных нейропротекторных лекарственных средств [91].

Решением этой проблемы было создание комбинированных синтетических препаратов, содержащих два и более активных компонента с различными механизмами действия с целью снижения межлекарственного взаимодействия. Но, неожиданные побочные эффекты были выявлены даже у хорошо известных ЛС,

несмотря на тот факт, что теоретически такие сочетания были достаточно обоснованы [15].

1.3. Комбинированные ноотропные лекарственные средства

Для наиболее эффективного и безопасного лечения неврологических расстройств для каждого конкретного пациента нужен индивидуальный подход в соответствии с его клинической картиной, с учетом возраста, а также наличия или отсутствия сопутствующих заболеваний. Вместе с тем, основываясь на широкой благоприятной практике применения седативных комбинированных ЛС в неврологии, в том числе растительного происхождения, создание комбинированных НЛС является весьма актуальным и перспективным направлением в современной фармакологии. Основой для создания таких средств является комбинирование компонентов, сочетающих в себе различные механизмы действия: ноотропную и вазотропную активности. К сожалению, на данный момент номенклатура подобных средств на российском рынке, особенно растительного происхождения, не имеет широкого разнообразия и не всегда удовлетворяет потребностям пациентов.

Наиболее известной комбинацией является сочетание пирацетама и циннаризина (по 0,4 г и 0,025 г соответственно). Такое сочетание является обоснованным, сочетая в себе как ноотропное, так и вазотропное действия, и имеет достаточную доказанную эффективность. Но, несмотря на положительные аспекты, существует потенциальный риск и опасность возникновения лекарственного паркинсонизма, развития депрессии и заторможенности. Данные осложнения связаны скорее с продолжительностью применения и дозировкой препарата, но как правило, для лечения этих заболеваний как раз и требуется длительный курс приема [18,84].

Еще одна комбинация винпоцетина с пирацетамом оказывает прямое релаксирующее влияние на гладкую мускулатуру сосудов преимущественно головного мозга и не вызывает феномена «обкрадывания». Но также обладает

похожими с предыдущим ЛП побочными действиями, наряду с возникновением неуравновешенности, нарушением сна, головокружений, головной боли и судорог [84].

Комбинация пирацетама и тиотриазолина (по 0,2 г и 0,05 г соответственно) проявляет защитный эффект воздействием на клеточные структуры в условиях ишемии и гипоксии нейронов головного мозга. В данном сочетании отсутствует ярко выраженный вазотропный эффект, а входящий в состав тиотриазолин не является классическим ноотропным средством, а действует скорее опосредованно, являясь гепато- и кардиопротектором.

Обобщая вышесказанное, комбинированные средства – это решение с точки зрения фармакологии и индивидуального подхода к лечению пациентов, за счет сочетания различных механизмов действия и во избежание полипрагмазии. Но наравне с перечисленными преимуществами они имеют ряд недостатков и возникает вопрос безопасности применения таких комбинированных синтетических ЛС [18].

В связи с этим стоит обратить внимание на растительные средства, которые как раз и сочетают в себе комбинированное комплексное воздействие и, как правило, являются безопасными при длительном лечении имея свойство аккумулировать фармакологический эффект.

В современном мире наблюдается изменение мышления и увеличение интереса к здоровому образу жизни, правильному питанию и переход ко всему натуральному. Как результат растёт недоверие к синтетическим ЛС и возрастает потребность в фитопрепаратах. Спрос на них растет с каждым годом, особенно в развитых странах [15, 29]. В некоторых европейских странах и в США препаратам растительного происхождения отдают предпочтение до 40% населения. А в отечественной врачебной практике распространено назначение растительных препаратов в качестве профилактической и вспомогательной терапии неврологических заболеваний.

НЛС растительного происхождения обладают мягким накопительным и клинически выраженным действием, имеют хорошую переносимость и высокую

безопасность. За счет богатого химического состава они обладают смешанным механизмом и комплексным воздействием на весь организм, что уже само по себе является основой для назначения лечения нейрометаболических и сосудистых нарушений [15].

Исходя из вышесказанного, наиболее перспективными эффективными и безопасными нейропротекторными препаратами могут быть комбинированные лекарственные средства, а растительные ноотропные препараты еще больше отвечают заявленным требованиям.

1.4. Лекарственные растения и сырье, обладающие ноотропной активностью

1.4.1. Листья гинкго двулопастного

Одним из наиболее известных растений, обладающих ноотропной активностью является гинкго двулопастный (*Ginkgo biloba L.*, сем. Гинкговые – *Ginkgoaceae*). Гинкго двулопастный – реликтовое дерево, единственный представитель семейства, сохранившийся в неизменном виде с палеозойской эры [2]. В медицинских целях гинкго начали использовать еще 5000 лет назад в Древнем Китае, и только 200 лет назад его интродуцировали в Европе и Америке [12-14, 71, 148, 150].

Гинкго двулопастный произрастает в странах с субтропическим климатом, но легко адаптируется и в других климатических зонах. Его удалось культивировать даже на территории Российской Федерации в условиях нашего климата, например, в Москве в Ботаническом саду Института физиологии растений РАН им. К.А. Тимирязева и Ботаническом саду Первого МГМУ им. Сеченова, в Краснодарском и Ставропольском краях [2].

Гинкго — листопадное дерево, достигающее на родине (Китай, Япония) высоты 30–40 м и возраста до 2 тысяч лет. Выделяют два типа побегов листьев гинкго: с быстрым и замедленным темпом роста. Быстрорастущие располагаются одиночно и по спирали, немного удлиненные, а короткие медленнорастущие располагаются в пучках на верхушке по 5-7 листьев. Плоды похожи на костянку,

внутри которых находятся обратнойцевидные семена длиной до 3 см. Размножается семенами и черенками [2, 13, 72, 122, 148].

Химический состав листьев стали изучать еще в 20-е годы XX века [59]. В листьях гинкго содержатся: терпеновые трилактоны (гинкголиды, билобалиды), флавоноиды (кверцетин, кемпферол, гинкгетин, изогинкгетин, изорамнетин, нарциссин, никотифлорин, аментофлавоны), дубильные вещества, стероиды (фитостерин), полисахариды, органические кислоты, эфирные масла, аминокислоты, а также макро- и микроэлементы [31, 15, 17, 71, 72, 81, 125, 144, 148].

Листья гинкго и препараты на его основе обладают всеми наиболее характерными и перечисленными ранее фармакологическими свойствами присущие ноотропным препаратам, а именно нейропротекторным, вазотропным (вазорегилирующим и антиагрегантным), нейротрофическим, антиоксидантным, нейромедиаторным и мембраностабилизирующим [11, 59]. При этом комплексностью действие ЛП гинкго отличаются от известных ноотропных препаратов, таких как пирацетам, ницерголин, винпоцетин [59]. БАС гинкго положительно влияют на восстановление функций мозга после повреждений или отравления токсическими веществами, а также стабилизируют мембраны гематоэнцефалического барьера [12-19, 59, 127-130, 133, 142, 145, 148].

Лекарственные препараты из листьев гинкго применяют при нарушениях когнитивных функций разного генеза, в том числе возрастных или вследствие болезни Альцгеймера. Их назначают после черепно-мозговых травм и инсультов, а также при сосудистых нарушениях кровообращения, таких как ангио-, ретино-, артериопатиях, синдроме Рейно и других нарушениях. Показанием к применению препаратов гинкго являются головокружение, ухудшения кратковременной памяти, шум в ушах, ослабление внимания, раздражительность, снижение слуха и другие симптомы мозговых дисфункций и нейросенсорных расстройств [12-19, 31, 128, 148, 150].

В настоящее время листья гинкго двулопастного входят в Европейскую и Американскую фармакопеи, а также в ГФ РФ XIV изд, включены в

Государственный реестр лекарственных средств РФ [84]. Согласно ФС.2.5.0010.15 ГФ РФ XIV изд. стандартизируются по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на рутин спектрофотометрическим методом [103].

Первый препарат, содержащий экстракт листьев гинкго был зарегистрирован в 1965 году [59]. Основной субстанцией, получаемой из листьев является экстракт (*Extractum Ginkgo Egb 761*) который включает 25 % гинкгофлавоногликозидов и 6% терпенлактонов [59, 78]. Ассортимент препаратов на основе экстракта в РФ представлен ЛС: Танакан®, Билобил®, Мемоплант®, Витрум® Мемори, Гинкор Форт®, Гинкор гель® [72, 84].

1.4.2. Листья бадана толстолистного

Бадан толстолистный (*Bergenia crassifolia (L.) Fritsch*) - лекарственное растение, которое может быть известно под другими названиями: бергения толстолистная, монгольский чай, сибирский чай, салай, чагирский или чигирский чай, камнеломка толстолистная. Бадан толстолистный — это многолетнее вечнозеленое растение, высота которого может достигать 60-70 см. Родиной бадана является Сибирь, но встречается он и на Урале, в Хабаровском крае, в Приморье, Казахстане, в Корее, Средней Азии и даже в Афганистане [89, 105, 111, 114].

Листья крупные, кожистые и блестящие, расположены на длинных черешках. Листья бадана толстолистного собраны в прикорневой густой розетке. Хотя бадан считают вечнозеленым растением, листья сохраняются 2-3 года. Листья появляются весной после цветения, растут летом, зимуют сохраняя зеленую окраску, а затем следующей весной краснеют, буреют и в последствии чернеют, уступая место новым листьям. Цветы растения раздельнополые, мелкие, правильной формы собраны в густое верхушечное метельчато-щитковидное соцветие белого, розового или лилового цвета. Цветет бадан толстолистный с мая по июль. Плод бадана толстолистного - сухая коробочка [32, 89, 105, 111, 114, 117].

Выделяют зеленые, бурые и черные (ферментированные) листья бадана толстолистного в качестве ЛРС. Не смотря на схожесть в их химическом составе,

имеются различия как в качественном составе, так и количественном содержании групп БАС. Наряду с этим все три вида сырья различаются и по проявляемым фармакологическим свойствам. В рамках настоящего исследования изучались зеленые листья, поскольку именно они удовлетворяют требованиям, заявленным в диссертационной работе. Соответственно, во всех последующих упоминаниях листьев бадана подразумеваются, исключительно, зеленые листья [32, 89, 105, 111].

В листьях бадана в большом количестве (до 27%) содержатся дубильные вещества, которые в основном относятся к гидролизуемым дубильным веществам (галловая, эллаговая кислоты). Листья бадана являются самым богатым в мире растительным источником фенологликозида арбутина (до 22 %), раньше наибольшее содержание отмечалось в листьях толокнянки (5 % арбутина) [104]. В листьях также содержатся флавоноиды (рутин, кверцетин, кемпферол, лейкоцеанидин, лейкодельфинидин), простые фенолы, гидрохинон (до 4 %), органические кислоты, каротиноиды, кумарины (изокумарин, бергенин), аминокислоты, антоцианы (пелларгонидин, цианидин), сахара, пектины, витамины (А, Е, С, К, группы В), макро- и микроэлементы [32, 89, 105, 111, 121].

В народной медицине настои и отвары из корневищ и листьев бадана используются для внутреннего и наружного применения при желудочно-кишечных заболеваниях, болезнях горла и полости рта, при лихорадках и головных болях, стоматитах и гингивитах, при посттравматических заболеваниях почек, а также в гинекологической практике [98]. В тибетской, монгольской и китайской медицине листья и корневища бадана пользуются популярностью и используют чаще в смесях при туберкулезе и респираторных болезнях, а также при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и нервной системы [89, 121].

Согласно Государственной Фармакопее, лекарственным растительным сырьем являются корневища бадана толстолистного, обладающие вяжущим, кровоостанавливающим и противовоспалительным действием. А листья бадана толстолистного находятся на стадии изучения.

В литературе имеются данные о перспективности использования листьев бадана в качестве ноотропного средства [117]. Проводилось изучение

церебропротекторных свойств экстракта листьев на модели постгипоксической энцефалопатии, а также при нарушении энергетического метаболизма в митохондриях головного мозга после гипоксической травмы. Кроме того, листья обладают антистрессорным, антигипоксическим, сосудоукрепляющим, умеренно кардиостимулирующим (увеличивают частоту сердечного ритма), адаптогенным, антистрессовым, антидепрессивным, антиоксидантным, иммуномодулирующим действиями, а также способствуют быстрому восстановлению животных после гипоксических травм [29, 81, 89, 116, 117, 121].

1.4.3. Трава таволги вязолистной

Лабазник вязолистный, или таволга вязолистная (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.), семейство розоцветные (*Rosaceae*). Ботаническое родовое название — лабазник, а «таволга» говорит о произрастании растения по волглым, влажным местам в заболоченной местности и по берегам водоемов [1, 7, 26, 51, 137, 146].

Растение имеет большую вегетативную массу и широкий ареал произрастания на территории РФ в европейской части страны и в Сибири. Это подтверждается ресурсными исследованиями, проведенными в некоторых субъектах России [25,58].

Таволга травянистое растение, которое может достигать 1,5–2 м в высоту. Растение имеет очередное листорасположение, а сами листья имеют 3-5-рассеченную листовую пластину и боковые листочки. Цветки имеют двойной околоцветник с бежевым или белым венчиком и собраны в метельчатые соцветия, обладают сильным медовым ароматом, цветут в июне–июле. Плоды – семянки, созревающие в конце лета [1, 6, 7, 25, 45].

Химический состав таволги вязолистной изучен в достаточной степени. Трава содержит дубильные вещества пирогалловой группы, флавоноиды (рутин, авикулярин, гиперозид, кверцетин, лютеолин, кемпферол, также выделено новое флавоноидное соединение, названное филимарин, структура которого установлена как галактопиранозид кверцетина), фенолкарбоновые кислоты (салициловая),

фенольные гликозиды (спирейн, гаултерин, кумарин, изосалицилин, монотропитин), высшие жирные кислоты (стеариновая, линолевая), оксикоричные кислоты (кофейная, хлорогеновая), эфирные масла, полисахариды (водорастворимый комплекс, пектиновые вещества, гемицеллюлоза), каротиноиды, аскорбиновую кислоту, азотсодержащие соединения, аминокислоты, макро- и микроэлементы [29, 31, 45, 137]. Также был подробно изучен состав эфирного масла, выделенного из различных органов растения. Так в стеблях и цветках таволги выделяют около 100 соединений, а в листьях до 150. В цветках самые распространенные компоненты эфирного масла метилацетат, н-трикозан, хотриенол, линалоол, салициловый альдегид, в листьях н-гептадекан и нонанол, а в стеблях нонанол, метилсалицилат и н-гептадекан. Само эфирное масло надземной части таволги представляет собой жидкость желтовато-коричневого цвета с характерным ароматом [31, 38-42].

В РФ ЛРС из надземных и подземных органов таволги активно изучается и выпускается в виде биологически активной добавки (БАД). А на цветки таволги была временная фармакопейная (ФС), действующая до 2007г. Трава таволги как ЛРС включена в Британскую травяную фармакопею. В других странах чаще всего используют цветки таволги и применяют как противовоспалительное средство [21]. Кроме того, таволгу вязолистную активно применяют во многих странах в народной медицине, в том числе в составе сборов при черепно-мозговых травмах, после инсультов и при снижении памяти в старческом возрасте [31, 95, 115].

По данным литературы установлено, что трава и цветки таволги оказывают ноотропную, антигипоксическую, антиоксидантную, адаптогенную, церебропротективную, ангиопротективную, антикоагулянтную, антиканцерогенную, иммуномодулирующую, антидислипидемическую, мембраностабилизирующую активности, положительно влияет на память и работоспособность, способствует регрессу атеросклероза экстра- и интракраниальных артерий мозга, применяют при лечении неврозов, эпилепсии, гипертонической болезни, нейросенсорных нарушениях (снижении слуха, шуме в

ушах), назначают при головных болях, раздражительности, снижении памяти, синильных изменениях психоэмоционального статуса [6, 7, 8, 21, 29, 64, 137, 146].

Некоторые исследователи изучали экстракт из надземной части таволги вязолистной и отмечают его ноотропные, антиоксидантные и антигипоксические свойства. Фармакологическую активность экстракта исследовали на животных используя модели: условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ), "открытое поле", Т-образный лабиринт с водной депривацией, моделирование гипоксии в условиях гермообъема и принудительное плавание. Наиболее выраженную ноотропную активность исследователи выделяли у экстрактов на 70 % спирте. В результате изучения химического состава экстракта травы таволги вязолистной было выявлено содержание многих упомянутых ранее в составе ЛРС соединений [29, 114].

1.4.4. Корни солодки

Солодка голая и солодка уральская (*Glycyrrhiza glabra* L., *G. uralensis* F.) семейства бобовые (*Fabaceae*) — многолетние травянистые растения, достигающих высотой 50-150 см [93]. Произрастают в пределах низкотравных полусаванн, на лугах в приречной полосе, часто как сорное [90].

Корень солодки или лакричный корень (лакрица) использовали еще в Древнем Египте (упоминается в папирусе Эберса), о нем пишут Гиппократ и Гален в своих трудах и средневековый энциклопедист Востока Абу Али ибн Сина. Солодка известна и в тибетской медицине и медицине Китая, где использовали ее как противоядие и старались добавлять во все лекарства для усиления их действия, а также при ухудшении памяти, затруднении речи, слабости [49, 97].

Основным БАС солодки является тритерпеновый гликозид глицирризиновая кислота, которая обладает широким спектром активности, а также другие сапонины (производные глицирризина и глицирритиновой кислоты) [62]. В корнях солодки содержатся и другие группы БАС: флавоноиды (глиционид А и В и др.), сахара (глюкоза (до 15,2%), сахароза (до 11%), крахмал, фенольные соединения

(ликвиритин, изоликвиритин, ликвиритогенин, изоликвиритогенин глициридины А-К), органические кислоты (салициловая, синаповая, феруловая, кофейная), кумарины, алкалоиды, дубильные вещества, стероиды (эстрадиол), смолы, камеди, витамины С, В, макро- и микроэлементы (К, Са, Fe, Si, Sn и др.) [30, 52, 56, 134, 136, 149].

Корни солодки включены в ГФ РФ XIV изд. ФС 2.5.0040.15 и стандартизуются по содержанию глицирризиновой кислоты методом СФМ. Препараты из ЛРС солодки имеют широкий спектр действия, но главным образом назначают в качестве отхаркивающего и противовоспалительного средства [97, 110]. Корни солодки включены также в ГФ Республики Беларусь, Республики Казахстан, Китая, Индии, Японии, США, Великобритании и в Европейскую фармакопею (Eu.Ph.). На данный момент в мире насчитывается более 1,7 тыс. патентов на основе корней солодки, в том числе в РФ зарегистрировано более 30 патентов [56].

Помимо этого, солодка обладает антиоксидантным, нейро-, кардио-, гастро- и гепатопротективными действиями, а также иммуномодуляторным, антидиабетическим, антиастматическим, антидепрессивным, противоопухолевым и холинолитическим [30]. Водные экстракты из корней способны стимулировать рост дендритов нервных клеток. Известно, что флавоноиды, выделенные из корней, уменьшают ломкость капилляров и нормализуют проницаемость сосудистой стенки, а также защищают нервную ткань от поражений при эпилептических приступах. Выделенные из солодки ликвиритин, ликвиритигенин, глицирризин, ликопиранокумарин, изоликвиритигенин и глицирурол обладают выраженными нейропротективными свойствами и даже предупреждают возникновение болезни Паркинсона. А глабридин, ликвиритигенин, глицирризиновая кислота защищают от ухудшения познавательных процессов и памяти, поэтому могут быть рекомендованы для лечения болезни Альцгеймера. Выделенные из корней ликвиритин и изоликвиритигенин предохраняют нервные клетки от повреждений, вызванных глутаматом, а глабридин от повреждений, вызванных ишемией и сахарным диабетом [36, 52, 53, 90, 134, 136, 149].

1.4.5. Плоды боярышника

Плоды боярышника (*Crataegi fructus*) согласно ГФ РФ XIV изд. заготавливают от 12 видов боярышника, которые относятся к семейству Розоцветные (Rosaceae). Растения широко распространены на территории РФ, их можно встретить в районах низкогорья и на долинах, и часто культивируются в различных целях. Поэтому сырьевая база представлена достаточно широко. Плоды, как и цветки боярышника используют с древнейших времен в народной и официальной медицине в качестве кардиотонического средства [20,44, 66, 139].

Плоды имеют богатый химический состав, в них определено более 150 БАС, такие как флавоноиды (кверцетин, гиперозид, витексин, изокверцетин), процианидины, эфирные масла (монотерпеновые, тритерпеновые, сесквитерпеновые), жирные масла, органические кислоты (лимонная, олеановая, урсоловая, кротегусовая, кофейная, хлорогеновая, бетулиновая), углеводы (глюкоза, фруктоза, сахароза, арабиноза, ксилоза, манноза, галактоза), дубильные вещества, каротиноиды, пектины, холин, витамины, стероиды, лигнаны, азотсодержащие вещества, флаванокумарины кратегусины А и В, макро- и микроэлементы [44, 54, 66, 123, 126, 131, 139, 147].

Одной из основных действующих групп в ЛРС боярышника являются флавоноиды. Согласно ФС 2.5.0061.18 ГФ РФ XIV изд., плоды боярышника стандартизируются по содержанию суммы флавоноидов, в пересчете на гиперозид спектрофотометрическим методом. Известно, что гиперозид является также одним из основным БАС у травы зверобоя, которая обладает наряду с противовоспалительной активностью и антидепрессантной. Таким образом, можно предположить наличие схожей фармакологической активности и у плодов боярышника [101].

Плоды боярышника обладают наряду с кардиотоническим действием еще и антиаритмическим, а также улучшают коронарное кровообращение и предупреждают старение эндотелия стенок кровеносных сосудов. Поэтому их чаще всего назначают при заболеваниях сердечно-сосудистой системы, таких как

стенокардия, тахикардия, сердечная недостаточность, гипертоническая болезнь, мерцательная аритмия, миоастения, ангионевроз, атеросклероз. ЛРС боярышника также назначают при неврозах, а входящие в состав семян боярышника сесквинеолигнаны и изолярицирезинол обладают нейпротекторным действием, так как предупреждают скопление бета амилоида в нервной ткани [44, 66, 120, 123, 126, 132, 139, 147, 151].

Экспериментальные исследования экстракта боярышника выявили седативное, антидепрессивное и анксиолитическое действия. Также отмечают, что экстракт способен защищать клетки головного мозга от повреждений, вызванных ишемией у лабораторных животных. А выделенный из боярышника флавоноид витексин предупреждает развитие болезни Паркинсона, защищая от поражения химическими агентами нигральные ядра головного мозга [54, 152].

В народной медицине плоды боярышника часто используют при головных болях и головокружениях [54].

1.5. Теоретическое обоснование состава ноотропного сбора

В современной фармакологии существует проблема создания эффективных и безопасных лекарственных средств, обладающих ноотропным действием. Для решения этой проблемы наилучшим образом подходят лекарственные средства растительного происхождения.

Как показывает практика многих исследователей, галеновые препараты, содержащие в себе богатый комплекс БАС, чаще всего имеют ряд преимуществ в сравнении с отдельно выделенным веществом или даже очищенным экстрактом из растений. Комплексные препараты из ЛРС содержат в себе большее количество групп соединений, которые помимо всего прочего находятся в соотношении схожим с составом самого растения. Более того, они имеют широкий спектр действия и способны воздействовать не только на орган-мишень, но и на весь организм в целом, оказывая наиболее полное комплексное лечение. При этом галеновые препараты менее токсичны, вызывают меньше побочных эффектов,

обладают детоксицирующим эффектом и увеличивают сопротивляемость организма к повреждающим факторам. Таким образом, в современном мире можно наблюдать тенденцию возврата к использованию лекарственного растительного сырья и разработке на его основе новых комплексных препаратов. В настоящее время существует термин «фитокинетическая синергия», который доказывает симбиотическое действие лекарственных растений с организмом человека, при котором ЛРС проявляют наиболее выраженное фармакологическое действие [29].

В частности, известно ноотропное средство, обладающее антигипоксической активностью (патент РФ №2314115), представляющее собой экстракт надземной части лабазника обыкновенного (*Filipendula vulgaris Moech*) [70]. Известно также применение экстракта надземной части лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria (L.) Maxim.*) в качестве средства, обладающего ноотропной и адаптогенной активностью (патент РФ №2311193). Однако, использование экстракта одного вида лекарственного растительного сырья, как правило, менее эффективно по сравнению с растительными композициями, характеризующимися комплексным эффектом воздействия [94].

Наиболее близким к разработанному составу является сбор лекарственных растений ноотропного действия (патент РФ №2578453), включающий: траву лабазника вязолистного 20-30%, траву манжетки обыкновенной 10-20%, побеги черники обыкновенной 10-20%, зеленые листья бадана толстолистного 40-50%. Однако, препаратом сравнения при изучении ноотропной активности данного сбора служил растительный препарат сухой экстракт корня шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis Georgi*), являющийся менее изученным и реже применяемым в медицине ноотропным препаратом. Кроме того, в вышеуказанном сборе в рамках проведенного доклинического исследования не доказано ноотропное действие при патологиях ЦНС [87].

Группой исследователей из Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (г. Улан-Удэ) были разработаны три многокомпонентных растительных средства в виде жидких водно-спиртовых экстрактов. «Полиноофит» в состав которого входят: корни шлемника байкальского, корни пиона уклоняющегося,

корни кровохлебки аптечной, трава сушеницы топяной, трава горца птичьего, побеги пятилистника кустарникового и плоды шиповника. «Ноофит», состоящий из корней шлемника байкальского, валерьяны лекарственной, левзеи сафлоровидной, травы мяты перечной, горца птичьего, тысячелистника, и листьев крапивы двудомной. «Нейрофит», состоящий из корней валерьяны лекарственной, пиона уклоняющегося, шлемника байкальского, травы пустырника, плодов шиповника и боярышника. Фармакологические свойства экстрактов были подробно изучены в 2005-2015 гг. в доклинических и в клинических исследованиях. Вышеперечисленные многокомпонентные растительные средства состоят из 6-7 компонентов, где 3 из них относятся к подземным органам [3, 77]. Однако, большое число компонентов, включенных в состав предложенных средств не является положительной предпосылкой для стандартизации сборов. Для диагностичности важно строго обоснованное число компонентов, а также, желательно, чтобы они относились к разным морфологическим группам и семействам [37].

Все перечисленные исследования внесли серьезный вклад в номенклатуру нейротропных средств, однако по-прежнему актуальной является проблема создания наиболее эффективных комбинированных ноотропных средств. Результатом решения данной проблемы является создание сбора на основе лекарственных растений, обладающего ноотропным действием, как в норме, так и в условиях патологии. При этом новое средство должно быть безопасным при длительном ежедневном применении в терапевтических дозах.

Основываясь на результатах информационно-аналитического исследования, мы сочли целесообразно включить в состав нового ноотропного сбора следующие виды ЛРС: листья гинкго билоба, листья бадана толстолистного, траву лабазника вязолистного, корни солодки, плоды боярышника. Кроме вышеперечисленных видов для включения в сбор рассматривались корни шлемника байкальского, побеги черники обыкновенной, трава манжетки обыкновенной, трава альфредии, трава княжика сибирского и др. Однако, по степени изученности, широте сырьевой

базы и степени разработки нормативной документации (НД) на эти виды ЛРС, мы сочли нецелесообразным включать их в новый сбор.

Предложенные нами компоненты содержат различные группы БАС, среди которых преобладают фенольные соединения. Это обеспечивает комплексное и многостороннее применение данного сбора в качестве ноотропного средства. Компоненты сбора принадлежат к различным морфологическим группам, что существенно облегчает его стандартизацию, а именно определение подлинности.

Как видно из раздела 1.4. все компоненты сбора имеют богатый химический состав, обусловленный различными группами БАС. Преобладают в составе фенольные соединения, особое место среди них занимают вещества флавоноидной природы, которые, предположительно, и оказывают основное ноотропное действие.

Все компоненты имеют богатый спектр фармакологической активности, в том числе оказывающее не только прямое ноотропное, но и сопутствующее, вспомогательное воздействие для лечения и оказания положительного влияния на когнитивные функции и на сердечно-сосудистую систему организма в целом.

Анализ существующих ЛС ноотропного действия показал, что в настоящее время для регуляции и улучшения мозговой деятельности используются вещества различной химической структуры и обладающие различными фармакологическими свойствами. В таблице 1.1. представлены необходимые фармакологические эффекты, которые должны оказывать ноотропные препараты для обеспечения всестороннего комплексного действия, а также какими из этих эффектов обладают предложенные нами компоненты сбора.

Таблица 1.1 - Ноотропное действие компонентов, входящих в состав сбора

Фармакологическое действие	Компоненты ноотропного сбора				
	Листья гинкго двулопастного	Листья бадана толстолистного	Трава таволги вязолистной	Корни солодки	Плоды боярышника
Ноотропное	+	+	+		

Вазотропное	+				+
Анигиопротекторное (капилляроукрепляющее)	+	+	+	+	+
Антиоксидантное	+	+	+	+	+
Нейромедиаторное	+ (влияние на холиэргиче скую систему)			+ (холино литичес кое)	+ (антихолинэ стеразное)
Мембраностабилизирующ ее	+	+	+		
Кардиостимулирующее		+		+	+
Антигипоксическое	+	+	+		
Адаптогенное		+	+		
Антидепрессантное	+			+	+
Антистрессорное		+	+		

Как свидетельствует опыт использования многокомпонентных сборов, число компонентов должно быть минимальным для обеспечения желаемых фармакологических эффектов, что также оказывает существенное влияние на стандартизацию сборов [37]. Таким образом предложенный состав отвечает всем поставленным задачам, как с точки зрения фармакологического действия, так и с точки зрения его дальнейшей стандартизации. Предлагаемое средство позволит расширить номенклатуру отечественных лекарственных средств растительного происхождения ноотропного действия.

Касательно обоснования процентного содержания, в качестве доминирующего компонента нового сбора были выбраны листья гинкго билоба, составляющие в сборе 50%. Листья гинкго достаточно хорошо изучены и прочно вошли в медицинскую практику в качестве ноотропного средства. Они обладают широким спектром применения в качестве нейропротекторного средства и используются для улучшения работы мозга и интеллектуально-мнестических функций организма. На данный момент существует множество препаратов на основе листьев гинкго с хорошо доказанной эффективностью. Химический состав

и фармакологические свойства листьев достаточно изучены. Сырьевая база заготовки листьев на территории РФ представлена Кавказом и Крымом, а также ЛРС доступно для закупки.

Траву таволги вязолистной и листья бадана толстолистного мы сочли обоснованным включить в состав сбора в равных долях по 20%, тем самым обеспечить существенный вклад в ноотропные свойства разработанного сбора. На сегодняшний день эти объекты не входят в ГФ РФ, но являются перспективными в качестве применения как ноотропных ЛС. Их химический состав и спектр фармакологического применения достаточно подробно изучен. На данный момент существует несколько патентов на основе травы (цветков) таволги и листьев бадана в составе комбинированных ЛС, а также монопрепаратов на основе таволги. Таволга имеет достаточно большую сырьевую базу в дикорастущем виде и широко распространена на территории РФ, а бадан в дикорастущем виде произрастает в Сибири, а также довольно часто культивируется в других регионах.

Универсальность химического состава и широта фармакологических свойств, а также высокая степень изученности и использования в различных областях медицины позволили включить в состав сбора корни солодки. Несмотря на то, что их часто применяют как отхаркивающее или противовоспалительное средство, они обладают и нейропротекторными свойствами: увеличивают объем кратковременной памяти и положительно действуют на протекание процессов в нервной ткани. Также корни солодки издавна добавлялись во все медикаменты, так как считалось, что они усиливают действие последних. В состав сбора корни солодки включены в количестве 5%, одновременно являясь коррегентом вкуса благодаря своему приятному сладкому вкусу. ЛРС корни солодки включено в ГФ РФ и имеет достаточную сырьевую базу.

Плоды боярышника составляют 5% ноотропного сбора. Основное действие боярышника обусловлено благоприятным воздействием на всю сердечно-сосудистую систему в целом, что позволяет расширить спектр фармакологической активности сбора.

Таким образом, в состав сбора были отобраны следующие компоненты, % по массе:

листья гинкго двулопастного (<i>Ginkgo biloba folia</i>)	50 %
листья бадана толстолистного (<i>Bergeniae crassifoliae folia</i>)	20 %
трава таволги вязолистной (<i>Filipendulae ulmariae herba</i>)	20 %
корни солодки (<i>Glycyrrhizae radices</i>)	5 %
плоды боярышника (<i>Crataegi fructus</i>)	5 %

Выводы к главе 1

1. В ходе информационно-аналитического исследования было установлено, что ноотропным действием обладают разные классы биологически активных веществ, как синтетического, так и природного происхождения. Общими свойствами которых, являются способность улучшать высшие функции мозга, повышать его устойчивость к различным вредным воздействиям и улучшать мозговое кровообращение.

2. Спектр применения ноотропных препаратов широк, но при этом имеет место проблема безопасности синтетических ноотропных препаратов, а именно наличие побочных эффектов. В связи с этим поиск новых эффективных и безопасных ЛС является актуальной задачей.

3. Одним из перспективных направлений в лечении и профилактике когнитивных нарушений является разработка комплексных ноотропных средств с мультимодальным действием, среди которых препараты растительного происхождения занимают особое место, отличаясь большей безопасностью в сравнении с синтетическими аналогами.

4. Результаты проведенного информационно-аналитического исследования свидетельствуют о перспективности видов ЛРС, обладающих нейропротекторным действием, среди которых листья гинкго двулопастного, листья бадана толстолистного, трава таволги вязолистной, корни солодки и плоды боярышника. Изученные химический состав и фармакологические свойства ЛРС и

препаратов на их основе, также подтверждают перспективность этих объектов в качестве компонентов ноотропного сбора.

5. На основании информационно-аналитического исследования были отобраны наиболее перспективные по своему химическому составу и спектру фармакологической активности компоненты сбора ноотропного действия. Базируясь на данных информационно-аналитического исследования, теоретически обоснован состав и количественное соотношение компонентов сбора: листьев гинкго двулопастного 50%, листьев бадана толстолистного 20%, травы таволги вязолистной 20%, корней солодки (5%, плодов боярышника 5%.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Объектами исследования являются сбор ноотропного действия и его отдельные компоненты. В состав сбора входят (при соотношении % по массе) (Рисунок 2.1):

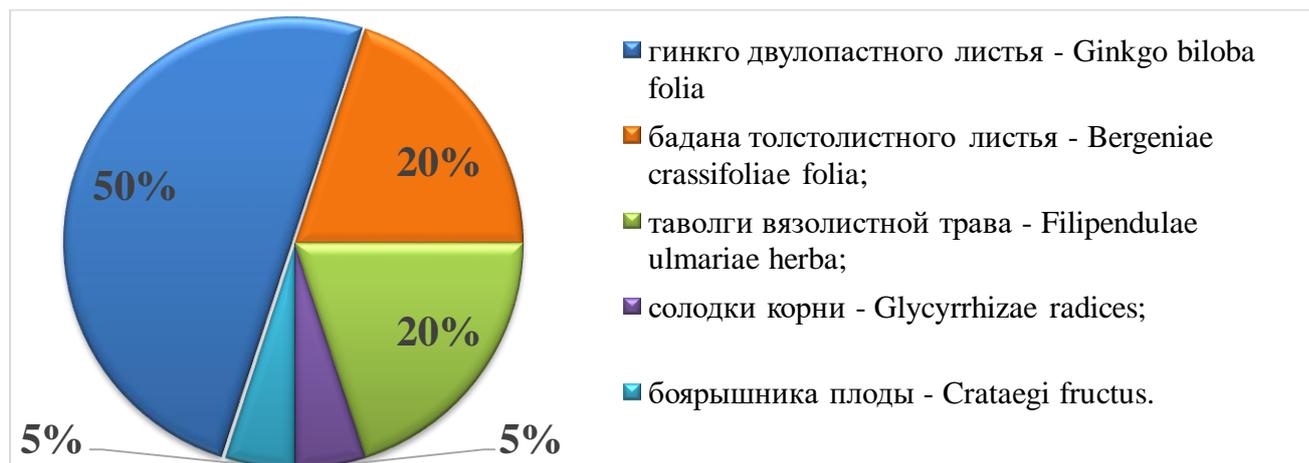


Рисунок 2.1 - Состав ноотропного сбора

Для анализа сбора и его компонентов использовались листья бадана толстолистного и трава таволги вязолистной собранные в 2017-2019гг. в Московской и Тверской областях РФ, а также в Ботаническом саду Сеченовского Университета. Листья бадана после заготовки и определения сушили, используя шкафы лабораторные сушильные при температуре 50-70°C. Сырье таволги подвергали воздушно-теневого сушке, раскладывая сырьё тонким слоем. Для ноотропного сбора использовались лабораторные образцы листьев гинкго двулопастного, заготовленные в Московской области и Ставропольском крае, которые также подвергали воздушно-теневого сушке. И приобретенные в аптечных организациях корни солодки (ФС.2.5.0040.15 ГФ РФ XIV изд., Т. 4, с. 6429 «Солодки корни») и плоды боярышника (ФС.2.5.0061.18 ГФ РФ XIV изд., Т. 4, с. 5913 «Боярышника плоды»). Сырье хранили в соответствии с требованиями НД в бумажных пакетах.

Сбор готовили в лабораторных условиях в соответствии с указаниями ОФС 1.4.1.0020.15 «Сборы» ГФ РФ XIV изд. Для этого все компоненты измельчали по отдельности до размера частиц 5 мм. В случае образцов, приобретенных в аптечных организациях, при необходимости, проводили дополнительное измельчение. После чего компоненты смешивали до получения однородной смеси.

Для исследования из сбора и его компонентов готовили водные и спиртовые извлечения, а также отвар в соотношении сырье: экстрагент 1:10 в соответствии с ОФС.1.4.1.0018.15 ГФ РФ XIV изд. «Настои и отвары».

Для анализа фармакологической активности из ноотропного сбора получали экстракт жидкий спиртовой методом дробной мацерации в соответствии с ОФС.1.4.1.0021.15 ГФ РФ XIV изд. «Экстракты».

2.2. Методы исследования

2.2.1. Макроскопический и микроскопический анализ

Макроскопическое исследования сырья проводили согласно с требованиями соответствующих ОФС ГФ РФ XIV изд. на изучаемую морфолого-анатомическую группу ЛРС («Травы», «Листья», «Плоды», «Корни, корневища, луковицы, клубни, клубнелуковицы»), а также по ОФС.1.4.1.0020.15 «Сборы».

Микроскопическое исследования сырья проводилось в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического, и микрохимического исследования, лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» ГФ РФ XIV изд. Для приготовления микропрепаратов из листьев гинкго, листьев бадана, травы таволги и корней солодки использовали 5% раствор NaOH, разведенный 1:1 с водой. Кусочки плодов боярышника кипятили в воде очищенной.

В работе использовались микроскопы «БИОМЕД С2» (окуляр 10X и объективы: 4X, 10X, 40X) и «ЛОМО МИКМЕД-6» (окуляр 10X и окуляр-микрометр 10X, объективы: 4X, 10X, 40X). Результаты фиксировались на фотокамеру.

2.2.2. Определение флавоноидов

Для обнаружения флавоноидов использовали фармакопейные качественные реакции с раствором алюминия хлорида и раствором хлорида железа (III). Определение проводили как на водном, так и на спиртовом (70% спирт) извлечениях из сбора (соотношение сырье: экстрагент 1:10).

Детальный качественный состав фенольных соединений изучали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Для этого использовали систему растворителей: безводная муравьиная кислота – вода – этилацетат (10:8:34) и пластинки (MERCK, Германия) 20x20. На линию старта наносили 70% спиртовое извлечение (1:10), раствор стандартных образцов (СО) рутина ($\geq 97\%$, CN Acros organics, CAS 153-18-4) и рабочие растворы стандартов кверцетина, гиперозида и хлорогеновой кислоты. Для детектирования пластинку выдерживали в сушильном шкафу при 100-105°C 2-3 минуты, затем еще теплую пластинку последовательно обрабатывали дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1% и полиэтиленгликолем 400 раствором спиртовым 5%, прогревали 3-5 минут и изучали при УФ-свете (ультрафиолетовом) (365 нм).

Количественное определение флавоноидов для объектов, включенных в ГФ РФ проводили методиками, описанными в фармакопейных статьях на конкретное сырье. Так, для определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин для листьев гинкго и суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид в плодах боярышника использовали спектрофотометрические методики ФС.2.5.0010.15 «Гинкго двулопастного листа» ГФ XIV изд., Т. 4, с. 5972 и ФС.2.5.0061.18 «Боярышника плоды» ГФ XIV изд., Т. 4, с. 5913. Для остальных объектов адаптировали фармакопейную методику определения флавоноидов.

Спектрофотометрическое исследование проводили на спектрофотометре Varian CARY 4000 UV-Vis, кювета с толщиной слоя 10 мм. Для обработки данных использовалась программа CaryWin UV Scan.

2.2.3. Определение дубильных веществ

Для обнаружения в ЛРС дубильных веществ использовали фармакопейную методику с раствором железа (III) аммония сульфатом для водного и спиртового (70% спирт) извлечений из сбора (соотношение сырья: экстрагент 1:10).

Сумма дубильных веществ, в пересчете на танин определяли по методике ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1) ГФ РФ XIV изд., Т. 2, с. 2365.

2.2.4. Определение полисахаридов

Предварительное обнаружение полисахаридов проводили фармакопейной реакцией осаждения полисахаридов 96% спиртом из водного извлечения.

Для определения суммы полисахаридов в сборе и его компонентах использовали методику ФС.2.5.0032.15 «Подорожника большого листа» ГФ РФ XIV изд., Т. 4, с. 6336.

2.2.5. Определение экстрактивных веществ

Содержание экстрактивных веществ, извлекаемые водой и спиртом 70% определяли по методике ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1) ГФ РФ XIV изд., Т. 2, с. 2356.

2.2.6. Определение аминокислотного состава

Для предварительного обнаружения аминокислот, извлечения из сбора и его компонентов смешивали с 0,1% свежеприготовленным раствором нингидрина и осторожно нагревали до появления устойчивого красно-фиолетового окрашивания. Методом ТСХ проводили качественный анализ аминокислот. Для этого по 5 мкл водных извлечений сбора и его компонентов (1:10) наносили на пластинки

(MERCK, Германия) 20x20 и хроматографировали в системах 96% спирт: концентрированный аммиак (16:4,5) и бутанол: уксусная кислота: вода (4:2:1). Детектирование проводят 0,1% спиртовым раствором нингидрина с последующим прогреванием в сушильном шкафу при температуре 100 - 105°C в течение 3-5 минут. На хроматограмме проявлялись красно-фиолетовые зоны адсорбции (аминокислоты) [9].

В ноотропном сборе и компонентах определяли сумму свободных аминокислот, в пересчете на глутаминовую кислоту. Измерения проводили спектрофотометрическим методом при максимуме поглощения 568 нм по образованию фиолетового окрашивания в результате реакции с нингидрином. Готовили водные извлечения при соотношении сырье: экстрагент (1:50) и кипятили на водяной бане с обратным холодильником 1 час. По истечении времени полученное извлечение сразу фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу объемом 50 мл, доводили водой до метки (раствор А).

Для измерения оптической плотности в мерную колбу на 100 мл добавляли: 2 мл раствора А, 4 мл фосфатного буфера (рН 6,4), 2 мл 1% спиртового раствора нингидрина и 2 мл 0,05% водного раствора аскорбиновой кислоты. Полученную смесь нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 минут, после охлаждали под струей воды и доводили объем раствора до метки.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО глутаминовой кислоты по аналогичной схеме [27].

Для более детального и количественного изучения аминокислотного состава ноотропного сбора проводили определение методом обращенно-фазовой хроматографии с применением флуориметрического детектора с предколоночной дериватизацией по методике Waters Acc Q Tag на модульной системе высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) Agilent. Для этого готовили водные извлечения трехкратной экстракцией по 60 мин на водяной бане с обратным холодильником при соотношении сырье: экстрагент (1:30). Извлечения объединяли и упаривали под вакуумом до 25 мл [10].

Для определения свободных аминокислот водное извлечение сбора и водные стандартные растворы аминокислот подвергали дериватизации реагентом ACCQ FLUOR. Затем перемешивали на вихревом миксере и инкубировали 10 мин при температуре 55 °С. Готовые дериватизированные растворы вводили в хроматографическую систему. В качестве подвижной фазы (ПФ) использовали: А – натрия ацетат, триэтиламин, раствор ЭДТА, вода очищенная, Б – ацетонитрил – вода.

Для определения связанных аминокислот водное извлечение подвергли гидролизу. Сначала провели выпаривание образца в выпарительной чашке досуха. Затем в выпаренный образец добавили 200 мкл 6 М соляной кислоты и выдержали пробу в термостате при температуре 105 °С в течении 24 часов. К полученному остатку прибавили 20 мл воды, выпарили на плитке и добавили буферный раствор с рН-2,2 в количестве 10 мл. Полученные образцы подвергали дериватизации описанным выше способом. Условия хроматографирования представлены в таблицах 2.1. и 2.2.

Таблица 2.1 - Условия хроматографирования

Параметр	Условия
Колонка	Асс Q Tag 150 x 3,9 мм
Температура	37°С
Скорость потока ПФ	1 мл/мин
Детектор	Флуоресцентный детектор (длина волны возбуждения 250 нм, длина волны эмиссии 395 нм)
Объем пробы	10 мкл
Время цикла	1 час
Метод элюирования	градиентный

Таблица 2.2 - Схема градиентного элюирования

Время, мин	Буфер А, %	Буфер Б, %
0	97	3
16	96	4
25	90	10
35	80	20
40	80	20
50	70	30
51	0	100
54	100	0
60	100	0

2.2.7. Определение антиоксидантной активности

Оценку антиоксидантной активности проводили спектрофотометрическим методом, основанным на реакции ингибирования радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (ДФПГ). В результате реакции изменяется интенсивно-фиолетовая окраска ДФПГ и, соответственно, снижается величина оптической плотности раствора [48, 107].

Для эксперимента использовали $5 \cdot 10^{-4}$ М раствор ДФПГ (Sigma – Aldrich) в 96% этаноле, из которого готовили рабочий раствор. В качестве антиоксиданта использовали спиртовые извлечения сбора (раствор А из количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин разделы 2.2.2. и 3.2) из которого готовили серию разведений. К 2 мл рабочего раствора ДФПГ добавляли 2 мл испытуемого образца. Полученные образцы с ДФПГ переносили в темноту на 10 минут, а после определяли оптическую плотность методом спектрофотометрии при максимуме поглощения 517 нм. Раствором сравнения служил спирт 70% [6]. Спектрофотометрическое исследование проводили на спектрофотометре Varian CARY 4000 UV-Vis, кювета с толщиной слоя 10 мм. Для обработки данных использовалась программа CaryWin UV Scan.

Антиоксидантную активность (АОА) исследуемых веществ вычисляли по формуле:

$$АОА = \frac{(A_0 - A) \times 100\%}{A_0}$$

Где, A_0 – величина оптической плотности ДФПГ раствора (контроль);

A – оптическая плотность исследуемого образца с ДФПГ.

Для оценки антиоксидантной активности рассчитывали IC50 (half maximal inhibitory concentration). Это концентрация, при которой с тестируемым образцом связывается 50% радикалов ДФПГ. Для расчета IC50 строили графики зависимости антиоксидантной активности от концентрации, где выбирали отрезок на прямолинейном участке графика. Считается, что чем меньше значение параметра IC50, тем большей антиоксидантной активностью обладает объект исследования [4, 48, 106, 109, 118].

2.2.8. Определение арбутина

Качественное определение арбутина в ЛРС проводили методом ТСХ. В качестве неподвижной фазы при хроматографическом определении использовали пластинки (MERCK, Германия) 10x10. На линию старта пластинки наносили спиртовые извлечения (70 % спирт) из ноотропного сбора (1:10) и его компонентов (1:10). В качестве подвижной фазы при хроматографическом определении действующих веществ, использовали систему растворителей: безводная муравьиная кислота – вода – этилацетат (5:5:40). Детектирование проводили последовательной обработкой 10% спиртовым раствором NaOH и свежеприготовленным диазореактивом с последующим прогреванием в сушильном шкафу при температуре 100-110°C. Пластинки просматривали при дневном свете.

Количественное определение суммы фенологликозидов в ноотропном сборе и в листьях бадана толстолистного проводили спектрофотометрическим методом по методике ФС.2.5.0063.18 «Брусники обыкновенной листья» ГФ РФ XIV изд., Т. 4, с. 5933. Извлечения готовили при соотношении сырье: экстрагент 1:250 (размер

частиц 1 мм), кипятили с обратным холодильником на водяной бане при температуре 50-55°C в течение 1 часа. Параллельно готовили колонку с оксидом алюминия, которую предварительно промывали спиртом 70%. На подготовленную колонку наносили 2 мл фильтрата и элюировали 25 мл 70 % спиртом со скоростью 4 мл/мин. Раствор собирали в мерную колбу вместимостью 25 мл. Колонка использовалась однократно. Полученный элюат использовали для измерения оптической плотности на спектрофотометре при длине волны 285 нм. В качестве раствора сравнения использовали спирт 70%, пропущенный через колонку с алюминия оксидом [67].

2.2.9. Изучение фенольного состава сбора методом ВЭЖХ-УФ

Использовали стандартные образцы: гиперозида (CAS № 482-36-0, ≥97%), кемпферола (CAS № 520-18-3, ≥90%), арбутина (CAS № 497-76-7, ≥98,0%), рутина тригидрата (CAS № 250249-75-3, ≥94%), глицирризиновой кислоты аммониевую соль (CAS № 53956-04-0, ≥95,0%), лютеолин-7-О-глюкозида (CAS № 5373-11-5, ≥98%), хлорогеновой кислоты (CAS № 327-97-9, ≥95%), кофейной кислоты (CAS № 331-39-5, ≥98%), феруловой кислоты (CAS № 537-98-4, ≥99%), галловой кислоты моногидрат (CAS № 5995-86-8, ≥98%), бензойной кислоты (CAS № 65-85-0, ≥99,5%) производства Sigma-Aldrich (США); салициловой кислоты (CAS № 69-72-7, ≥99%), производства Acros Organics (Бельгия).

Для анализа из сбора и его компонентов готовили спиртовые извлечения (70% спирт) при соотношении сырье: экстрагент 1:50. А также для анализа водных извлечений готовили отвары из сбора и его компонентов в соотношении сырье: экстрагент 1:10 в соответствии с ОФС.1.4.1.0018.15 ГФ РФ XIV изд. «Настои и отвары». Условия хроматографического анализа представлены в таблице 2.3.

Таблица 2.3 - Условия хроматографического анализа фенольных соединений

Параметр	Условия
Хроматограф	Agilent 1100 Series HPLC в комплекте с системой подачи и дегазации на два растворителя, диодно-матричным

	детектором, термостатом колонок, устройством для автоматического ввода образцов (автосэмплер)
Программное обеспечение	Agilent ChemStation Rev. A.09.03
Колонка	Atlantis dc18, 100Å, 5 мкм, 4.6 мм × 250 мм
ПФ	0,1 % раствор муравьиной кислоты; метанол: ацетонитрил (25:75)
Режим элюирования	градиентный
t°C колонки	35°C
Аналитическая длина волны	254, 280, 300, 350
Время анализа	90 мин
Скорость потока ПФ	0,8 мл/мин
Объем вводимой пробы	20 мкл

Идентификацию соединений проводили на основе соответствия временам удерживания и УФ-спектрам стандартных образцов.

Схема градиентного элюирования представлена в таблице 2.4.

Таблица 2.4 - Схема градиентного элюирования фенольных соединений

Время, мин	Метанол: ацетонитрил (25:75)	0,1 % раствор муравьиной кислоты
0	0	100
80	80	20
85	0	100
90	0	100

1,5 мл полученного раствора помещали в центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 10 мин со скоростью 4500 об/мин. Надосадочную жидкость помещали в виалы для хроматографирования.

Статистическую обработку результатов содержания фенольных соединений в образцах проводили при $n = 4$, $P = 0,95$, $t(p, f) = 3.182$. Ошибка единичного определения составляла не более 5%.

2.2.10. Определение минерального состава

Качественный состав и количественное содержание минеральных элементов определяли методом оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-ОЭС).

Испытания проводили на оптико-эмиссионном спектрометре ICP-OES Agilent 5110. Стандартные концентрации готовили из коммерческих референс-стандартов с концентрациями элементов 1000 мг/л (элемент, серия): Fe 33/5K-1-ЦСО, Рв 22/2K-1-ЦСО, Zn 01-19, Мо 17/14K-1-ЦСО, Са 20/19K-1-ЦСО, Mg 17/20K-1-ЦСО, Mn 17/20K-1-ЦСО, Cr 01-19, Al 8/42K- ЦСО, Cu 25/3K-1-ЦСО, Na VCBZ3751, P A0394607, K BCCB9495, Ni 02-18, Co 10/8K-1-ЦСО, Si VCBV6768, Ga VCBV8460, Ti VCBV4891, V VCBZ4604, Zr VCBW7505, Ag 5/027- ЦСО. Стандартные концентрации готовили из мультистандартов с концентрациями элементов 100 мг/л: Be HC87303294, Cr HC87303294, Ba HC 60211292, В HC 60211292, Sr HC 60211292.

Для стандартных образцов определяемых элементов готовили калибровочные растворы определяемых разведением перечисленных выше стандартов в мерных колбах на 100 мл в интервале концентраций 1, 5, 10 мг/л с использованием «холостого» раствора – 3% раствора азотной кислоты; калибровочные растворы, содержащие стандарт кремния, готовили с использованием «холостого» раствора – 3% раствора фтористоводородной кислоты.

Около 0,5 грамма испытуемого образца (точная навеска) помещали во фторопластовый герметичный сосуд, добавляли 3 мл азотной кислоты концентрированной, помещали в муфельную печь, разогретую до 105°C. Через два часа сосуды охлаждали до комнатной температуры и смывали водой полученный раствор в мерную колбу на 25 мл, доводили до метки.

2.2.11. Методы определения показателей качества сырья

В ходе исследования были определены показатели качества ЛРС. Определение влажности, золы общей, золы нерастворимой проводили гравиметрическими методами, соответствующими ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов», ОФС.1.5.3.0005.15 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте» ГФ РФ XIV изд., т. 2.

2.2.12. Определение фармакологической специфической активности

Фармакологические исследования ноотропного сбора были выполнены на белых беспородных крысах-самцах с исходной массой тела 170-210 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария на обычном рационе кормления в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (г. Страсбург, 1986).

Из сбора ноотропного действия получали жидкий экстракт экстрагированием сырья 70% спиртом (соотношение сырье: экстрагент 1:1) по методике ускоренной дробной мацерации методом противотока. Использовали 3 перколятора, в каждый из которых помещали 1/3 сырья. Свежий экстрагент заливали в три приема и только в первый перколятор. Первую порцию экстрагента рассчитывали с учетом коэффициента водопоглощения, а оставшийся объем экстрагента делили пополам и использовали для второй и третьей порции. Первую порцию в первом перколяторе настаивали 4 часа. Затем переливали ее во второй перколятор, а в первый снова заливали свежую порцию экстрагента. Настаивали так еще 4 часа. После этого вытяжку из второго перколятора переносили в третий, из первого во второй, а в первый снова добавляли третью свежую порцию экстрагента. Таким образом запускали все три перколятора и оставляли их настаиваться на сутки. Готовый экстракт получали только из третьего перколятора. Оставшиеся две вытяжки в перколяторах выдерживали по той же схеме еще по 4

часа. Готовый экстракт получали путем объединения всех полученных вытяжек из третьего перколятора.

Жидкий экстракт из сбора ноотропного действия исследовали в дозе 1 мл/кг, оказывающей, согласно проведенным предварительным испытаниям, наиболее выраженное действие. В качестве препарата сравнения использовали пирацетам в дозе 400 мг/кг. Животные контрольной и интактной групп получали воду очищенную по аналогичной испытываемым группам схеме.

С целью исключения влияния этанола жидкий экстракт деалкоголизировали. Для этого его упаривали до густой консистенции на водяной бане, а затем доводили водой очищенной до необходимого объема.

Для определения специфической ноотропной активности использовали методику «Водного лабиринта Морриса», изучали влияние на обучаемость в методике условного рефлекса с положительным подкреплением (УРсПП), также было проведено хроническое токсикологическое исследование продолжительностью 6 месяцев.

2.3. Статистическая обработка результатов, валидация методик

Статистическая обработка результатов исследования была проведена в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV изд. с использованием критерия Стьюдента и программы Microsoft Office Excel.

При определении фармакологической активности значимость различий между указанными параметрами среди экспериментальных групп оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считались существенными при $p \leq 0,05$.

Валидацию аналитической методики проводили согласно ОФС 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» ГФ РФ XIV изд. Т.1 с.276.

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ОСНОВНЫХ ГРУПП БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

3.1. Изучение качественного состава ноотропного сбора

Как свидетельствуют данные научной литературы о химическом составе компонентов сбора в них входят различные группы БАС, среди которых преобладают фенольные соединения.

С помощью общепринятых фармакопейных реакций в сборе были определены основные группы БАС.

Предварительный качественный анализ на наличие флавоноидов в сборе и компонентах проводили с помощью реакции комплексообразования с хлоридом алюминия. Анализу подвергали и водные, и спиртовые (70% спирт) извлечения сбора и его компонентов. В результате получали желтое окрашивание раствора, свидетельствующее о наличии в лекарственном растительном сырье флавоноидов.

Для предварительного подтверждения наличие в ЛРС сбора и компонентов дубильных веществ проводили реакцию с железа (III) аммония сульфатом (ЖАК). В результате получали характерное черно-зеленое (черно-синее) окрашивание, свидетельствующее о содержании дубильных веществ.

Обнаружение полисахаридов в сборе и его компонентах проводили в водных извлечениях по реакции осаждения спиртом, в результате которой при добавлении 96% спирта в растворе образовывались белые или светло желтые сгустки, которые опадали в виде хлопьевидного осадка.

В результате исследования в сборе ноотропного действия и его компонентах было установлено наличие аминокислот по реакции с нингидрином (красно-фиолетовое окрашивание раствора).

Обнаружение сапонинов проводили интенсивным встряхиванием пробирок с водными извлечениями сбора и его компонентов, характеризующимся образованием устойчивой пены.

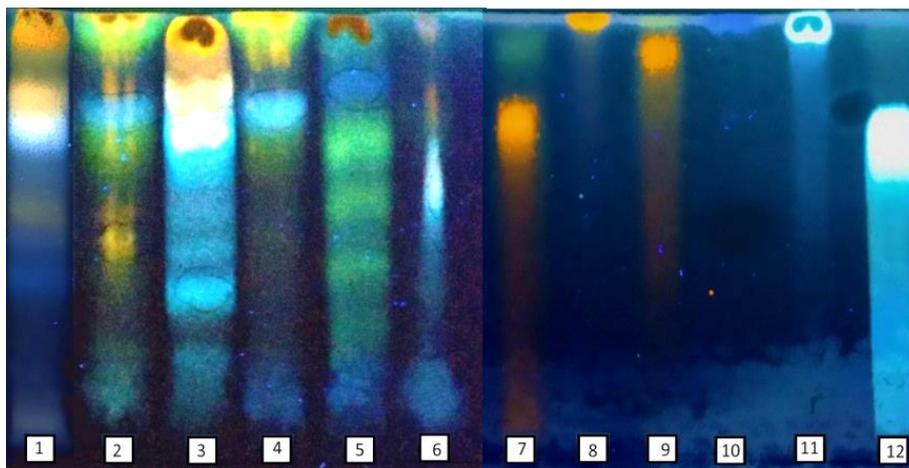
С помощью общепринятых фармакопейных реакций предварительно доказано наличие основных групп БАС в ноотропном сборе и его компонентах: флавоноидов, дубильных веществ, аминокислот, сапонинов, полисахаридов, результаты представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1 - Основные БАС ноотропного сбора

№	Группа БАС	Реактив	Наблюдаемый эффект					
			Ноотропный сбор	Компоненты				
				ГДЛ	БТЛ	ТВТ	СК	БП
1	Флавоноиды	Спиртовой 1% раствор алюминия хлорида	Желтое окрашивание раствора					
2	Дубильные вещества	ЖАК	Черно-синее (черно-зеленое) окрашивание раствора					
3	Аминокислоты	1% раствор нингидрина	Красно-фиолетовое окрашивание раствора					
4	Сапонины	Реакция пенообразование	Появление устойчивой пены					
5	Полисахариды	Осаждение спиртом 95%	Появление бело-желтого хлопьевидного осадка					

Примечание: ГДЛ - гинкго двулопастного листья; БТЛ - бадана толстолистного листья; ТВТ - таволги вязолистная трава; СК - солодки корни; БП - боярышника плоды.

Качественный состав фенольных соединений ноотропного сбора и компонентов изучали методом ТСХ. Для этого использовали систему растворителей безводная муравьиная кислота – вода – этилацетат (10:8:34). Для детектирования пластинку прогревали в сушильном шкафу при 100-105°C 2-3 минуты, затем еще теплую пластинку последовательно обрабатывали дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1% и полиэтиленгликолем 400 раствором спиртовым 5%, и еще раз прогревали в сушильном шкафу. Пластинку просматривали в УФ-свете (365 нм) (рисунок 3.1).



ПФ: муравьиная кислота – вода – этилацетат (10:8:34);

Детектор: дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира, макрогол 400, УФ свет 365нм

1 – спиртовое извлечение ноотропного сбора; 2 - спиртовое извлечение травы таволги; 3 - спиртовое извлечение листьев гинкго; 4 - спиртовое извлечение листьев бадана; 5 - спиртовое извлечение корней солодки; 6 - спиртовое извлечение плодов боярышника; 7 – СО рутин; 8 – СО кверцетин; 9 – СО гиперозида; 10 – СО ферулловой кислоты; 11 – СО кофейной кислоты; 12 – СО хлорогеновой кислоты.

Рисунок 3.1. Хроматограмма определения фенольных соединений (УФ свет 365нм)

В спиртовом извлечении сбора было обнаружено не менее 9 зон адсорбции, из которых удалось идентифицировать при сравнении со стандартными образцами рутин, гиперозид, кверцетин и хлорогеновую кислоту. В спиртовых извлечениях листьев бадана и листьев гинкго обнаружено по 8 зон адсорбции и идентифицирован гиперозид. В извлечении травы таволги 8 зон адсорбции из которых определены 3 соединения: рутин, гиперозид и хлорогеновая кислота. В спиртовом извлечении корней солодки обнаружено 7 зон адсорбции, а в плодах боярышника 5 и идентифицированы гиперозид и рутин (таблица 3.2.).

Таблица 3.2 - Хроматографический профиль водно-спиртового извлечения (70% спирт) ноотропного сбора

Образец	№ зоны	Rf	Цвет зоны адсорбции в УФ 365 нм	Идентифицировано
Ноотропный сбор	1	0,98	Оранжево-красный	Кверцетин
	2	0,93	Оранжевый	Гиперозид
	3	0,80	Персиковый	Рутин
	4	0,75	Светло-голубой	Не идентифицировано
	5	0,70	Голубой	Хлорогеновая кислота

	6	0,55	Оранжевый	Не идентифицировано
	7	0,48	Сине-фиолетовый	Не идентифицировано
	8	0,40	Голубовато-синий	Не идентифицировано
	9	0,07	Светло-оранжевый	Не идентифицировано
Листья бадана толстолистного	1	0,98	Желто-оранжевый	Не идентифицировано
	2	0,96	Желто-зеленый	Не идентифицировано
	3	0,90	Оранжевый	Гиперозид
	4	0,78	Голубой	Не идентифицировано
	5	0,70	Желто-зеленый	Не идентифицировано
	6	0,50	Оранжевый	Не идентифицировано
	7	0,30	Зеленый	Не идентифицировано
	8	0,15	Голубовато-синий	Не идентифицировано
Трава таволги вязолистной	1	0,95	Оранжевый	Гиперозид
	2	0,81	Светло-оранжевый	Рутин
	3	0,73	Светло-голубой	Хлорогеновая кислота
	4	0,65	Голубой	Не идентифицировано
	5	0,56	Голубой	Не идентифицировано
	6	0,48	Голубой	Не идентифицировано
	7	0,38	Голубой	Не идентифицировано
	8	0,20	Голубой	Не идентифицировано
Листья гинкго двулопастного	1	0,98	Желтый	Не идентифицировано
	2	0,96	Желто-зеленый	Не идентифицировано
	3	0,93	Оранжевый	Гиперозид
	4	0,78	Голубой	Не идентифицировано
	5	0,70	Зеленый	Не идентифицировано
	6	0,14	Синий	Не идентифицировано
Корни солодки	1	0,96	Красный	Не идентифицировано
	2	0,83	Синий	Не идентифицировано
	3	0,70	Зеленый	Не идентифицировано
	4	0,57	Зеленый	Не идентифицировано
	5	0,43	Зеленый	Не идентифицировано
	6	0,28	Зеленый	Не идентифицировано
	7	0,15	Синий	Не идентифицировано
Плоды боярышника	1	0,95	Оранжевый	Гиперозид
	2	0,80	Оранжевый	Рутин
	3	0,60	Светло-голубой	Не идентифицировано
	4	0,42	Голубовато-синий	Не идентифицировано
	5	0,18	Голубовато-синий	Не идентифицировано

3.2. Определение флавоноидов

Поскольку предварительный качественный анализ показал наличие флавоноидов в сборе и его компонентах целесообразно было определить и их количественное содержание.

Количественное содержание флавоноидов оценивали спектрофотометрическим методом, основанным на реакции комплексообразования с солями некоторых металлов, а именно с алюминием хлоридом.

Так как максимум спектра поглощения спиртового извлечения сбора (70 % спирт) после реакции комплексообразования с хлоридом алюминия был близок к максимуму комплекса рутина с хлоридом алюминия, то пересчет суммарного содержания флавоноидов в сборе вели на рутин (рисунок 3.2.).

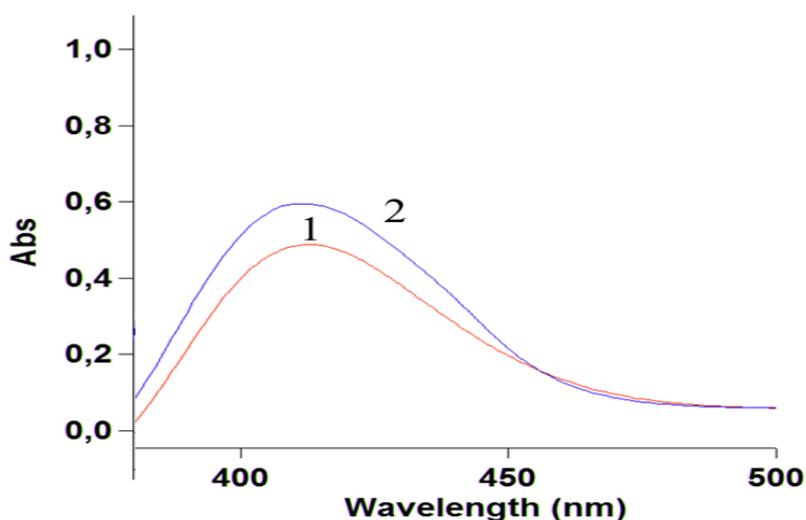


Рисунок 3.2 - Спектр поглощения: 1 - комплекса СО рутина с хлоридом алюминия (λ_{max} 409 нм); 2 - комплекса ноотропного сбора с хлоридом алюминия (λ_{max} 406 нм)

Для разработки методики количественного определения суммы флавоноидов было изучено влияние на результаты некоторых параметров, таких как концентрация спирта, измельченность сырья, соотношение сырья: экстрагент, время и кратность экстракции. Результаты представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3 - Содержание суммы флавоноидов в сборе в зависимости от условий экстракции (при $n = 4$, $P = 0,95$, $t(P, f) = 3,18$)

Условия	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %
Спирт	
50%	1,37 ± 0,06
60%	2,05 ± 0,09
70%	2,14 ± 0,10
80%	1,79 ± 0,06
96%	1,88 ± 0,03
Размер частиц сырья	
1,0 мм	2,21 ± 0,06
2,0 мм	1,96 ± 0,04
3,0 мм	1,86 ± 0,04
Время экстракции (сырье: экстрагент 1:50)	
20 мин	1,92 ± 0,09
30 мин	1,92 ± 0,09
45 мин	1,74 ± 0,07
60 мин	1,80 ± 0,09
Кратность экстракции	
Двукратная (по 20 мин)	2,09 ± 0,06
Двукратная (по 30 мин)	2,11 ± 0,05
Трехкратная (по 20 мин)	1,91 ± 0,05
Трехкратная (по 30 мин)	2,18 ± 0,08
Соотношение сырья: экстрагент	
1:100	2,17 ± 0,05
1:50	1,96 ± 0,05
1:20	1,64 ± 0,04

Оценивая результаты, оптимальными условиями для наилучшей и максимальной экстракции флавоноидов из ноотропного сбора можно считать: экстрагент спирт 70%; соотношение сырья и экстрагента 1:100; размер частиц ЛРС проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм. В виду того, что однократная

экстракция по 20 и 30 минут имели одинаковый выход флавоноидов, кратность экстракции смотрели как по 20 минут, так и по 30 минут. В результате трехкратная экстракция по 30 минут показала максимальное содержание флавоноидов, $2,18 \pm 0,08\%$.

Для получения стабильных результатов изучали влияние концентрации используемого для комплексообразования спиртового раствора алюминия хлорида на количество флавоноидов в сборе. Как видно из таблицы 3.4. наибольшее выявленное количество флавоноидов отмечается при добавлении 3 мл 5% раствора алюминия хлорида.

Таблица 3.4 – Выявленное количество содержания флавоноидов в сборе в зависимости от концентрации и количества добавленного спиртового раствора алюминия хлорида

Концентрация AlCl ₃	Сумма флавоноидов, %		
	1 мл раствора AlCl ₃	2 мл раствора AlCl ₃	3 мл раствора AlCl ₃
2% раствор AlCl ₃	1,63± 0,03	1,74± 0,06	1,88± 0,05
3% раствор AlCl ₃	1,86± 0,06	1,88± 0,06	1,96± 0,07
5% раствор AlCl ₃	1,84± 0,05	1,91± 0,05	2,05± 0,05

Таким образом, методика имеет окончательный вид:

Методика. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска), просеянного сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 30 мл 70% спирта. Затем колбу соединяли с обратным холодильником и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтровали через ватный тампон в мерную колбу вместимостью 100 мл. Вату помещали в колбу для экстрагирования и прибавляли 30 мл 70% спирта. Экстракция повторялась еще 2 раза в тех же условиях, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводили до метки 70% спиртом (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 3 мл раствора алюминия хлорида 5% в 95% спирте, 3 мл извлечения, 2-3 капли разведенной соляной кислоты и доводили объем раствора 70% спиртом до метки. Через 40 мин измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 406 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 3 мл извлечения, 2-3 капли разведенной соляной кислоты и доведенный 70 % спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл (раствор Б).

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца (СО) рутина, приготовленного аналогично испытываемому раствору.

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

$$X = \frac{A \times 25 \times 100 \times 100}{A^{1\%}_{1\text{см}} \times m \times 3 \times (100 - W)},$$

где А - оптическая плотность испытываемого раствора;

$A^{1\%}_{1\text{см}}$ - удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлорида при длине волны 406 нм, равный 190;

m - навеска сырья, г;

W - потеря в массе при высушивании сырья, %.

Для возможности определения качества сбора ноотропного действия по показателю количественное определение, а именно сумма флавоноидов в пересчете на рутин, методику валидировали. Для этого определяли такие параметры, как линейность, прецизионность (повторяемость и промежуточная прецизионность) и правильность.

Линейность определяли в диапазоне значений оптической плотности от 0,2 до 0,9 при длине волны 406 ± 2 нм на 5 пробах, приготовленных в разной концентрации. Для этого в мерные колбы вместимостью 25 мл помещали аликвотные доли раствора А, равные 2, 3, 4, 5 и 6 мл. Добавляли по 1 мл раствора алюминия хлорида 5% в 95% спирте, 2-3 капли разведенной соляной кислоты и доводили объем раствора 70% спиртом до метки. Ждали 40 мин и как описано

выше измеряли оптическую плотность раствора. График линейной зависимости оптической плотности извлечений сбора от содержания флавоноидов в навеске сырья с разными аликвотами представлен на рисунке 3.3. Результаты определения линейности в таблице 3.5.

Таблица 3.5 - Результаты определения линейности методики

№ образца	1	2	3	4	5
Аликвотная доля, мл	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0
Оптическая плотность	0,325	0,460	0,620	0,735	0,875

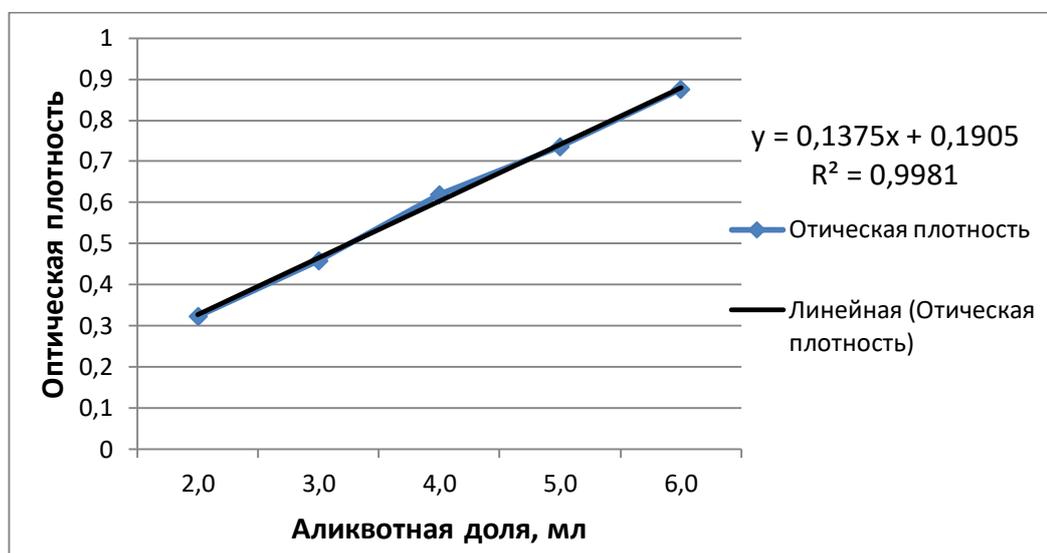


Рисунок 3.3 - График линейной зависимости оптической плотности от концентрации раствора

Коэффициент корреляции составил 0,9981, что отвечает условию ГФ РФ XIV изд. $|r| \geq 0,99$ и свидетельствует о линейности приведенной методики определения суммы флавоноидов в ноотропном сборе.

Прецизионность методики определялась величиной стандартного отклонения результата (RSD) и исследовалась как повторяемость (сходимость) и как внутрिलाбораторная (промежуточная) прецизионность. *Повторяемость* определяли в 6 параллельных определениях в одинаковых регламентируемых условиях одним и тем же исполнителем на одном и том же оборудовании (таблица 3.6). Значение RSD составило 4,23%.

Таблица 3.6 - Результаты определения повторяемости методики

Содержание, %	\bar{X}	ΔX	S^2	S	P, %	t(P;f)	E, %	RSD, %
2,27 2,14 2,16 2,05 2,03 2,20	2,14	0,10	0,008217	0,090646	95	2,57	4,44	4,23

Внутрилабораторную прецизионность определяли в условиях одной лаборатории в разные дни два разных аналитика на 3 образцах ноотропного сбора в 3 повторностях (таблица 3.7).

Таблица 3.7 - Результаты определения внутрилабораторной прецизионности методики

Исполнитель	№	Содержание, %		
		№ образца		
		1	2	3
Аналитик 1	1	2,12	2,07	2,25
	2	2,21	2,00	2,17
	3	2,17	2,13	2,10
Аналитик 2	1	2,20	2,02	2,07
	2	2,14	2,14	2,05
	3	2,08	2,26	2,16
Статистические характеристики	$\bar{X} \pm \Delta X$	2,15 \pm 0,05	2,10 \pm 0,10	2,13 \pm 0,08
	S^2	0,002467	0,009067	0,005547
	S	0,049666	0,095219	0,074476
	E, %	2,42	4,75	3,66
	RSD, %	2,31	4,53	3,49

Как видно из рассчитанной величины стандартного отклонения результатов для каждого из образцов методика удовлетворяет требуемым приемлемым значениям RSD, которые не превышают 5%.

Правильность методики оценивали методом добавок, путем добавления к спиртовому извлечению ноотропного сбора раствора СО рутина в количестве 0,005, 0,010 и 0,015г. Относительное стандартное отклонение не превышало 5%, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки (таблица 3.8).

Таблица 3.8 - Результаты определения правильности методики

№	Содержание флавоноидов, г	Добавлено стандарта, г	Теоретическое содержание, г	Фактическое содержание, г	Открываемость, %
1	0,0221	0,0050	0,0271	0,0279	102,95
		0,0100	0,0321	0,0306	95,33
		0,0150	0,0371	0,0357	96,22
2	0,0218	0,0050	0,0268	0,0259	96,64
		0,0100	0,0318	0,0309	97,17
		0,0150	0,0368	0,0369	100,27
3	0,0211	0,0050	0,0261	0,0265	101,53
		0,0100	0,0311	0,0301	96,78
		0,0150	0,0361	0,0358	99,17

Проведенные исследования показали валидность разработанной методики определения суммы флавоноидов по таким показателям как линейность, прецизионность (повторяемость и промежуточная прецизионность) и правильность.

Результаты определения содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сборе и компонентах представлены в таблице 3.9, а метрологические характеристики в таблице 3.10.

Таблица 3.9 - Результаты количественного определения суммы флавоноидов в пересчете рутина в сборе и некоторых компонентах

№	Содержание суммы флавоноидов в пересчете рутина					
	Сбор	Компоненты				
		Листья гинкго двулопастного	Листья бадана толстолистного	Трава таволги вязолистной	Корни солодки	Плоды боярышника*
1	2,23	1,63	1,73	5,10	2,04	0,0606
2	2,15	1,60	1,76	4,78	1,82	0,0595
3	2,11	1,78	1,89	5,11	1,96	0,0604
4	2,04	1,63	1,83	4,65	2,01	0,0588
5	2,04	1,61	1,92	4,66	1,84	0,0570
6	2,20	1,68	1,95	4,87	1,92	0,0600

\bar{X} , %	2,13±0,08	1,66±0,07	1,85±0,09	4,86±0,22	1,93±0,09	0,0594±0,0014
------------------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	---------------

Примечание: * - в плодах боярышника сумма флавоноидов в пересчете на гиперозид

Таблица 3.10 - Метрологические характеристики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете рутина в ноотропном сборе и в компонентах

ЛРС	\bar{X}	S ²	S	ΔX	P, %	t(0,95;6)	E, %
Сбор ноотропного действия	2,13	6,376667	0,079854	0,08	95	2,57	3,94
Листья гинкго двулопастного	1,66	4,510000	0,067157	0,07	95	2,57	4,26
Листья бадана толстолистного	1,85	7,866667	0,088694	0,09	95	2,57	5,04
Трава таволги вязолистной	4,86	4,213667	0,205272	0,22	95	2,57	4,43
Корни солодки	1,93	7,936667	0,089088	0,09	95	2,57	4,84
Плоды боярышника*	0,0594	1,785667	0,001336	0,0014	95	2,57	2,36

Примечание: * - в плодах боярышника сумма флавоноидов в пересчете на гиперозид

В ноотропном сборе сумма флавоноидов в пересчете на рутин составила 2,14±0,10%. В траве таволге определено в 2 раза больше флавоноидов, чем в листьях бадана 4,86±0,22% и 1,85±0,09%, соответственно. В корнях солодки обнаружено 1,93±0,09% флавоноидов.

Для листьев гинкго и плодов боярышника сумму флавоноидов определяли спектрофотометрическим методом, пользуясь частными фармакопейными статьями на ЛРС ФС.2.5.0010.15 «Гинкго двулопастного листья» и ФС.2.5.0061.18 «Боярышника плоды». В плодах боярышника определяли сумму флавоноидов в пересчете на гиперозид и она составила 0,06±0,001%, что соответствует требованиям статьи (не менее 0,04%). В листьях гинкго обнаружено 1,66±0,07% флавоноидов в пересчете на рутин, что более чем в 3 раза превышает минимальные требования, указанные в частной фармакопейной статье на данное ЛРС (не менее 0,5%).

3.3. Определение дубильных веществ

Анализ литературных данных о химическом составе, а также химический скрининг основных групп БАС качественными реакциями сбора и компонентов показал наличие дубильных веществ в ЛРС. Согласно некоторым исследованиям особенно большое количество дубильных веществ, как было отмечено ранее, в листьях бадана (до 27%) и траве таволги (около 15%).

Количественную оценку содержания дубильных веществ проводили согласно фармакопейной методике прямой пермангонатометрией (ОФС.1.5.3.0008.18, метод 1). Результаты представлены в таблице 3.11. Пересчет дубильных веществ вели на танин.

Таблица 3.11 - Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на танин в водных извлечениях ноотропного сбора и компонентов

ЛРС	\bar{X}	ΔX	S^2	S	P, %	t(0,95;6)	E,%
Сбор ноотропного действия	7,23	0,26	0,06016	0,24528	95	2,57	3,56
Листья гинкго двулопастного	2,75	0,09	0,00700	0,08367	95	2,57	3,19
Листья бадана толстолистного	19,51	0,18	0,02783	0,16682	95	2,57	0,90
Трава таволги вязолистной	12,49	0,49	0,21919	0,46817	95	2,57	3,93
Корни солодки	1,20	0,05	0,00271	0,05203	95	2,57	4,54
Плоды боярышника	1,50	0,07	0,00502	0,07083	95	2,57	4,96

Как видно из таблицы 3.11. в сборе содержится дубильных веществ $7,23 \pm 0,26\%$. Наибольшее содержание наблюдается в листьях бадана $19,51 \pm 0,18\%$ и в траве таволги $12,49 \pm 0,49\%$, что подтверждает литературные данные. Дубильных веществ в листьях гинкго $2,75 \pm 0,09\%$. В корнях солодки и плодах боярышника обнаружено наименьшее количество дубильных веществ, а именно $1,20 \pm 0,05\%$ и $1,50 \pm 0,07\%$ соответственно.

3.4. Определение полисахаридов

Количественное определение полисахаридов в сборе проводили гравиметрическим методом. Как видно из таблицы 3.12. содержание в водном извлечении сбора полисахаридов небольшое и составляет всего $3,30 \pm 0,15\%$. Самое большое количество полисахаридов обнаружено в плодах боярышника $8,47 \pm 0,34\%$. В траве лабазника и корнях солодки примерно одинаковое количество полисахаридов, $5,45 \pm 0,27\%$ и $5,70 \pm 0,26\%$ соответственно. Самое низкое содержание обнаружено в листьях гинкго $4,38 \pm 0,21\%$ и листьях бадана $4,14 \pm 0,20\%$.

Таблица 3.12 - Содержание суммы полисахаридов в водных извлечениях ноотропного сбора и компонентов

ЛРС	\bar{X}	ΔX	S^2	S	P, %	t(0,95;6)	E, %
Сбор ноотропного действия	3,30	0,15	0,01959	0,13995	95	2,57	4,45
Листья гинкго двулопастного	4,38	0,21	0,03860	0,19647	95	2,57	4,71
Листья бадана толстолистного	4,14	0,20	0,03614	0,19010	95	2,57	4,82
Трава таволги вязолистной	5,45	0,27	0,06498	0,25491	95	2,57	4,91
Корни солодки	5,70	0,26	0,06055	0,24606	95	2,57	4,53
Плоды боярышника	8,47	0,34	0,10206	0,31946	95	2,57	3,96

3.5. Определение аминокислотного состава

Аминокислоты являются важнейшим строительным материалом во всех клетках организма. Помимо участия в синтезе белка и ферментов, они выполняют функции нейромедиаторов, или являются их предшественниками, регулируют и участвуют в обменных процессах, работе ЦНС, иммунной и гормональной системах. Недостаток той или иной аминокислоты может сказываться на функционировании всего организма в целом, в том числе вызывать психические расстройства, нарушать работу сердечно-сосудистой системы, мозга и снижать умственную активность и память [92]. Считается, что аминокислоты, отвечают за

регуляцию экспрессии рецепторного аппарата, уровень кальция в нервных клетках и стимулируют кровообращение в нервной ткани, а также способны подавлять перекисное окисление липидов. Некоторые аминокислоты являются природными антиоксидантами - цистеин, глицин, пролин, β -аланин, таурин и другие [73].

Например, аминокислота глицин - медиатор центральной нервной системы. Как ЛП назначается при ишемии, гипоксии мозга и для лечения неврозов, так как сочетает в себе ноотропное и седативное действие [31]. Аргинин снижает вязкость крови и уменьшает риск тромбоза сосудов, поэтому эту аминокислоту часто назначают больным с ишемической болезнью сердца. Глутаминовая кислота поддерживает дыхание клеток головного мозга, ее применяют при лечении некоторых нервных и психических заболеваний [73].

Предварительное обнаружение аминокислот в сборе и компонентах проводили реакций с нингидрином. При изучении аминокислот методом ТСХ (глава 2, раздел 2.2.6.) в водном извлечении сбора было обнаружено 5 зон адсорбции красно-фиолетового цвета с значениями R_f 0,12; 0,21; 0,48; 0,66; 0,91 с использованием ПФ бутанол: уксусная кислота: вода (4:2:1) и 4 зоны адсорбции со значениями R_f 0,52; 0,75; 0,88; 0,98 в системе спирт этиловый 96%: концентрированный аммиак (16:4,5).

Для количественного анализа аминокислот в сборе и его компонентах было определено содержание свободных аминокислот в пересчете на глутаминовую кислоту методом спектрофотометрии после реакции с нингидрином (таблица 3.13). В сборе содержание свободных аминокислот составило $2,84 \pm 0,09\%$. Самое большое содержание аминокислот наблюдается в корнях солодки, $9,39 \pm 0,37\%$, что не расходится с литературными данными (до 10%) [61]. Меньше всего аминокислот обнаружено в боярышнике $1,01 \pm 0,05\%$, а также в листьях гинкго $1,77 \pm 0,09\%$. В бадане отмечается $3,52 \pm 0,11\%$, а в траве таволги $4,52 \pm 0,16\%$.

Таблица 3.13 - Содержание суммы свободных аминокислот в пересчете на глутаминовую кислоту в водных извлечениях ноотропного сбора и компонентов

ЛРС	\bar{X}	ΔX	S^2	S	P, %	t(P;6)	E,%
Сбор ноотропного действия	2,84	0,09	0,00763	0,08735	95	2,57	3,23
Гинкго двулопастного листья	1,77	0,09	0,00658	0,08115	95	2,57	4,77
Бадана толстолистного листья	3,52	0,11	0,00105	0,10265	95	2,57	3,06
Таволги вязолистной трава	4,52	0,16	0,02219	0,14896	95	2,57	3,46
Солодки корни	9,39	0,37	0,12435	0,35263	95	2,57	3,94
Боярышника плоды	1,01	0,05	0,01937	0,04401	95	2,57	4,56

Методом обращенно-фазовой хроматографии с применением флюорометрического детектора с предколоночной дериватизацией по методике Waters Acc Q Tag в ноотропном сборе было определено содержание свободных и связанных аминокислот (таблица 3.14).

Таблица 3.14 - Содержание и состав аминокислот в ноотропном сборе

№	Аминокислота	Содержание свободных аминокислот %	Содержание связанных аминокислот %
1	Аспарагиновая кислота	0,014	0,031
2	Серин	0,071	0,751
3	Глутаминовая кислота	0,008	0,022
4	Глицин	0,042	0,092
5	Гистидин	0,007	0,039
6	Аргинин	0,003	0,025
7	Треонин*	0,001	0,152
8	Аланин	0,009	0,064
9	Пролин	0,502	0,045
10	Тирозин	0	0,003
11	Валин*	0,017	0,787
12	Метионин*	0,060	0,224
13	Лизин*	0,027	0,062
14	Изолейцин*	0,290	0,676
15	Лейцин*	0,086	0,194
16	Фенилаланин*	0,027	0,049

Суммарное содержание аминокислот, %	1,165	3,216
Суммарное содержание незаменимых аминокислот, %	0,507	2,144

Примечание: * - незаменимая аминокислота.

Всего в сборе обнаружено 15 свободных и 16 связанных аминокислот, из них 7 незаменимых. Суммарное содержание свободных аминокислот составило 1,165%, среди которых почти половина - 0,507% - незаменимых. Преобладающими аминокислотами были пролин и незаменимая аминокислота изолейцин, что составило 0,502% и 0,290%, соответственно.

Связанных аминокислот обнаружено 3,216%, из которых незаменимых 2,144%, что составляет почти 2/3 от общего количества. Почти 70% связанных аминокислот представлены тремя аминокислотами, а именно серином, валином и изолейцином и находятся в сборе примерно в равном количестве по 0,751%, 0,787% и 0,676%.

В сборе также обнаружены, хоть и в небольших количествах, аминокислоты, описанные ранее и способные влиять на сердечно-сосудистую систему и на умственную деятельность и память, такие как глицин, глутаминовая кислота и аргинин. Глицина содержится 0,042% в свободном и 0,092% в связанном виде. В то время как аргинина и глутаминовой кислоты совсем немного по 0,003% и 0,008% в свободном состоянии, и в связанном по 0,025% и 0,022% соответственно.

Таким образом, методом спектрофотометрии определено содержание свободных аминокислот равное $2,84 \pm 0,09\%$, в то время как методом ВЭЖХ 1,165%. Это можно объяснить тем, что метод ВЭЖХ более точный и были определены не все, а только 16 из 20 основных аминокислот. Также в основе метода спектрофотометрии лежит реакция с нингидрином, которую помимо аминокислот могут давать еще и другие соединения, содержащие в своей структуре аминокислотную группу, например, пептиды, белки и другие.

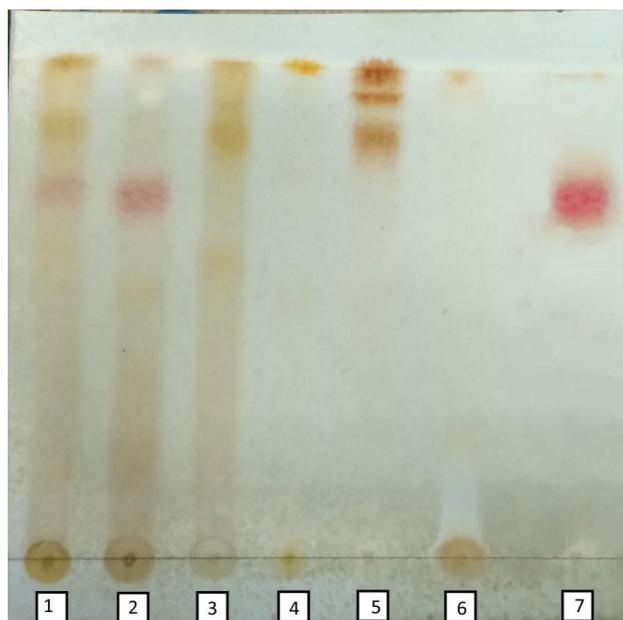
3.6. Определение арбутина

Согласно литературным данным в листьях бадана толстолистного содержатся фенологликозиды, а именно, арбутин. Его содержание может достигать 22 %, а свободного гидрохинона — 4 % [104]. Таким образом, для полной характеристики БАС сбора было целесообразно определить качественное и количественное содержание фенологликозидов в сборе ноотропного действия, а также в листьях бадана толстолистного.

Присутствие фенологликозидов подтверждали методом ТСХ, используя систему растворителей: безводная муравьиная кислота – вода – этилацетат (5:5:40). Детектировали последовательной обработкой 10% спиртовым раствором гидроксида натрия и диазореактивом с прогреванием в сушильном шкафу при температуре 100-105°C, затем рассматривали при дневном свете (рисунок 3.4). Результат качественного анализа представлен в таблице 3.15.

Таблица 3.15 - Хроматографический профиль спиртовых извлечения (70% спирт) ноотропного сбора и компонентов

№	Объект	Rf	Цвет зоны адсорбции	Идентифицировано
1	Ноотропный сбор	0,74 0,86	малиново-розовый оранжевый	Арбутин Не идентифицировано
2	Бадана толстолистного листья	0,53 0,73	желто-оранжевый малиново-розовый	Не идентифицировано Арбутин
3	Таволги вязолистной трава	0,57 0,83	оранжевый оранжевый	Не идентифицировано Не идентифицировано
4	Гинкго двулопастного листья	-	-	-
5	Солодки корни	0,86 0,96	коричнево-оранжевый коричнево-оранжевый	Не идентифицировано Не идентифицировано
6	Боярышника плоды	-	-	-
7	СО арбутина	0,73	яркий малиново-розовый	Арбутин



ПФ: безводная муравьиная кислота – вода – этилацетат (5:5:40).

Детектировали последовательной обработкой 10% спиртовым раствором гидроксида натрия и диазореактивом с прогреванием

Наносили спиртовые извлечения (70%): 1 – ноотропного сбора; 2 – листьев бадана толстолистного; 3 – травы таволги вязолистной; 4 – листьев гинкго двулопастного; 5 – корней солодки; 6 – плодов боярышника. 7 – СО арбутина.

Рисунок 3.4 - Хроматограмма, после обработки диазореактивом (дневной свет)

Определение содержания суммы фенологликозидов проводилось спектрофотометрически. Спектр поглощения спиртового извлечения листьев бадана толстолистного и ноотропного сбора после очистки на колонке с алюминия оксидом представлен на рисунках 3.5 и 3.6. Результаты количественного определения суммы фенологликозидов в пересчете на арбутин представлены в таблице 3.16.

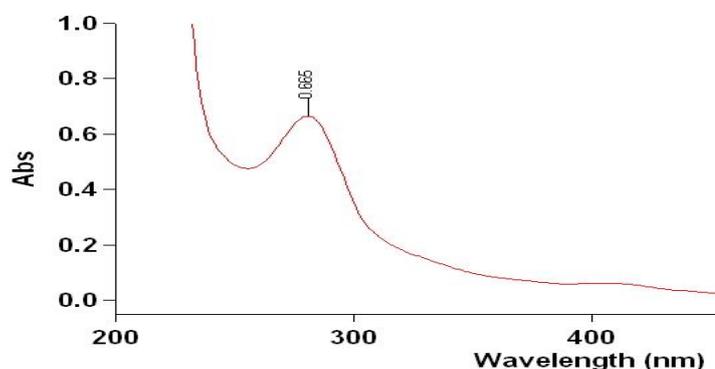


Рисунок 3.5 - Спектр поглощения спиртового извлечения листьев бадана толстолистного, после колонки

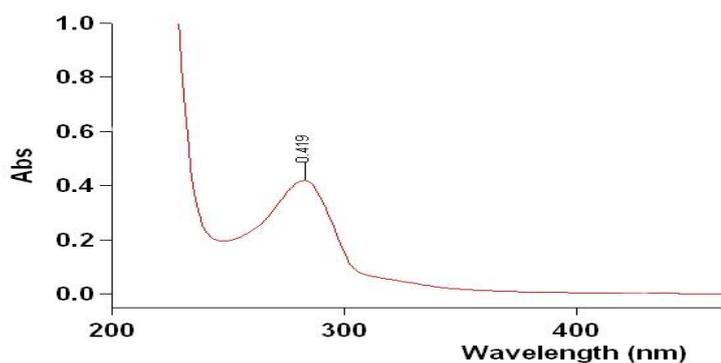


Рисунок 3.6 - Спектр поглощения спиртового извлечения сбора ноотропного действия, после колонки

Таблица 3.16 - Содержание и метрологические характеристики суммы фенологликозидов в пересчете на арбутин в ноотропном сборе и в листьях бадана толстолистного

ЛРС	\bar{X}	ΔX	S^2	S	P, %	t(P;f)	E, %
Сбор ноотропного действия	15,77	0,77	0,53212	0,72947	95	2,57	4,85
Листья бадана толстолистного	24,32	1,01	9,25817	0,96219	95	2,57	4,15

Таким образом, в листьях бадана спектрофотометрическим методом обнаружено содержание $24,32 \pm 1,01\%$ арбутина, что выше заявленных в литературе данных по его количеству. В сборе также обнаружено значительное содержание фенологликозидов в пересчете на арбутин, а именно $15,77 \pm 0,77\%$. Это можно объяснить тем, что вместе с арбутином после очистки на колонке с алюминия оксидом элюируют и другие вещества фенольного происхождения, которые и были обнаружены методом ТСХ в спиртовых извлечениях сбора и компонентов.

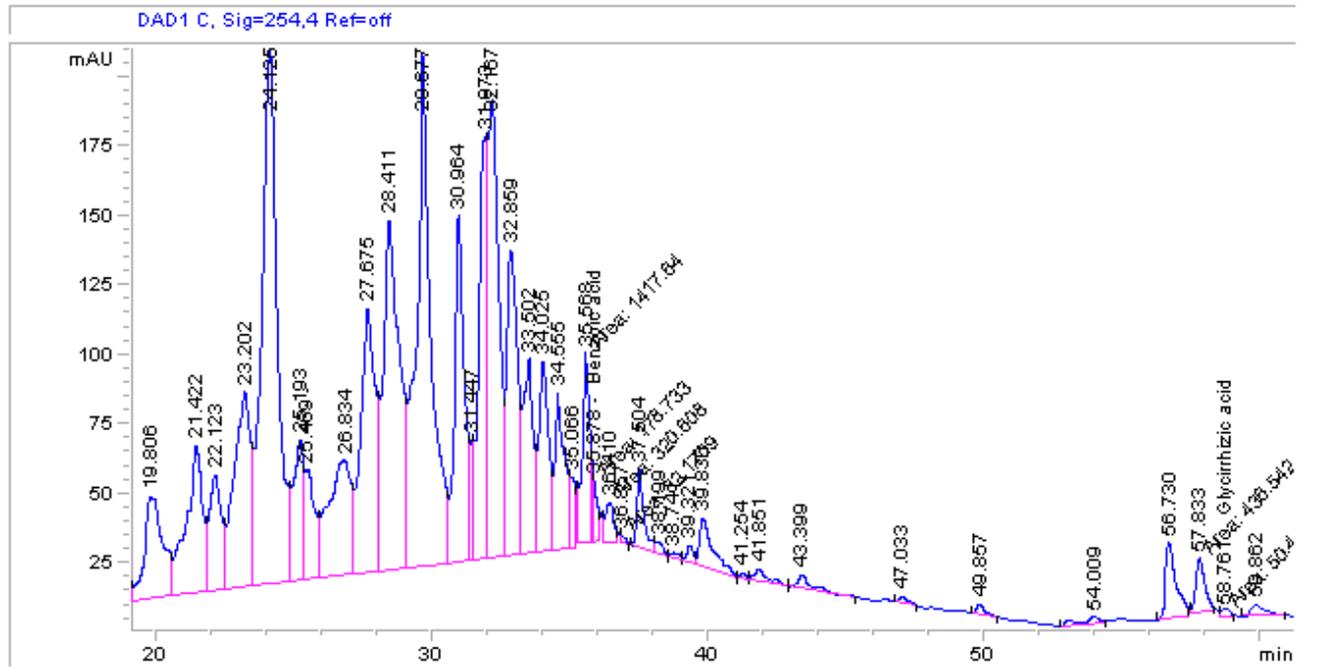
3.7. Изучение фенольного состава сбора методом ВЭЖХ-УФ

Основной группой БАС ноотропного сбора, как упоминалось ранее, являются фенольные соединения. Для их более точного качественного и количественного анализа использовали метод ВЭЖХ-УФ и изучали как спиртовые, так и водные извлечения из сбора и компонентов.

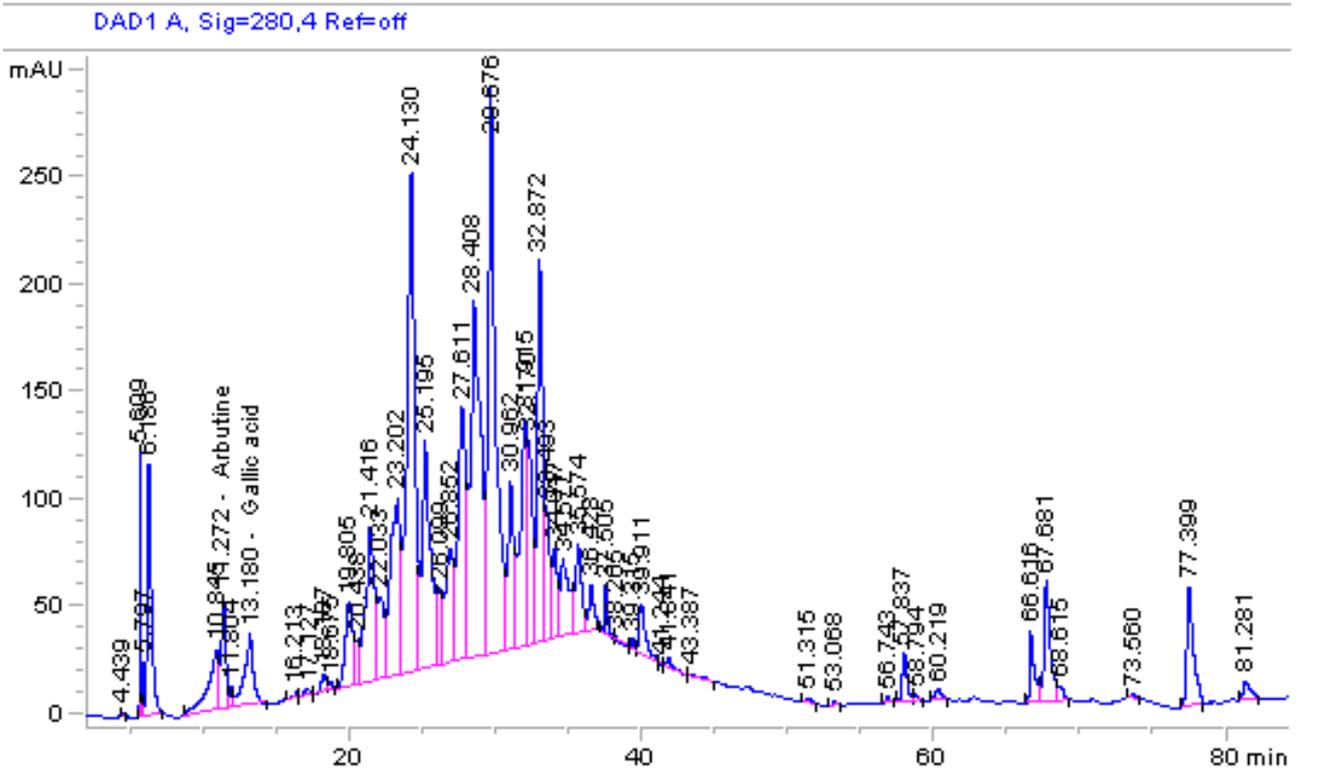
Идентификацию соединений проводили на основе соответствия временам удерживания и УФ-спектрам стандартных образцов. Измерения проводили при 4 длинах волн 254нм, 280нм, 300нм и 350нм, поскольку идентификацию каждого фенольного соединения проводят при определенной длине волны. Так, глицирризиновую и бензойную кислоты определяли при 254нм, галловую кислоту и арбутин при 280 нм, хлорогеновую, феруловую, салициловую и кофейную кислоты при 300 нм, а рутин, гиперозид, кемпферол и лютеолин-7-глюкозид при 350нм.

Результаты исследования спиртового извлечения из сбора и его отдельных компонентов представлены на рисунке 3.7 и в таблице 3.17. Методом ВЭЖХ-УФ в ноотропном сборе было обнаружено 12 соединений фенольной природы. Преобладающими были лютеолин-7-глюкозид и рутин. Их содержание составило 0,6322% и 0,3769% в пересчете на сухое сырье соответственно, или 47% и 28% от общей суммы обнаруженных соединений в 1,3492% в пересчете на сухое сырье. В листьях гинкго билоба обнаружено 7 соединений, содержание которых составило 0,6306%, преобладал рутин в количестве 0,2658%. В листьях бадана толстолистного обнаружено 5 фенольных соединений, такие как хлорогеновая и галловая кислоты, арбутин, рутин и лютеолин-7-глюкозид. Содержание последнего было 0,9412% в пересчете на сырье, что составило почти 54% от общего содержания обнаруженных БАС. В спиртовом извлечении травы таволги вязолистной было обнаружено 6 соединений фенольной природы. Суммарное содержание составило 3,2707%, и в основном представлено двумя веществами, лютеолин-7-глюкозид 2,0163% и рутин 1,1082%. В корнях солодки обнаружена глицирризиновая кислота в количестве 0,0468%. В плодах боярышника обнаружено 4 соединения в небольшом количестве в сумме 0,0257%.

ВЭЖХ-УФ хроматограммы ноотропного сбора

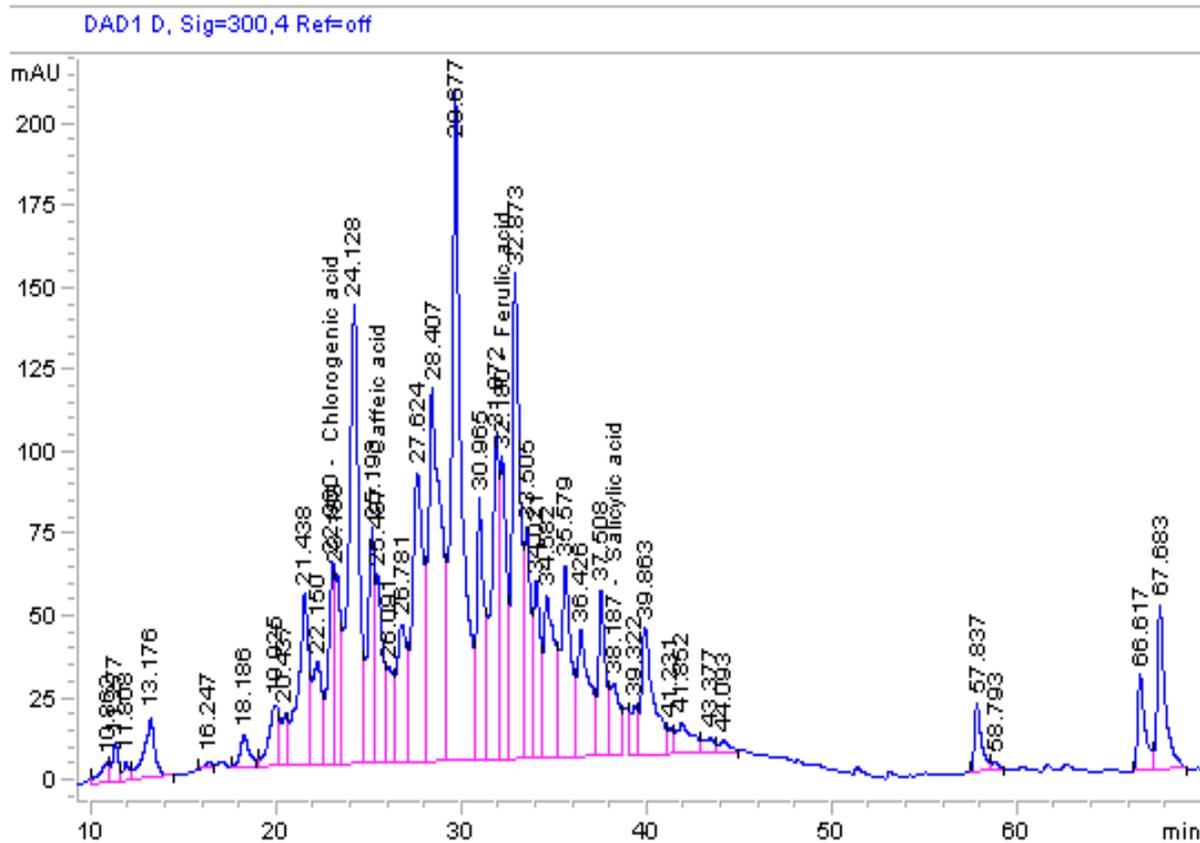


Ноотропный сбор, 254нм

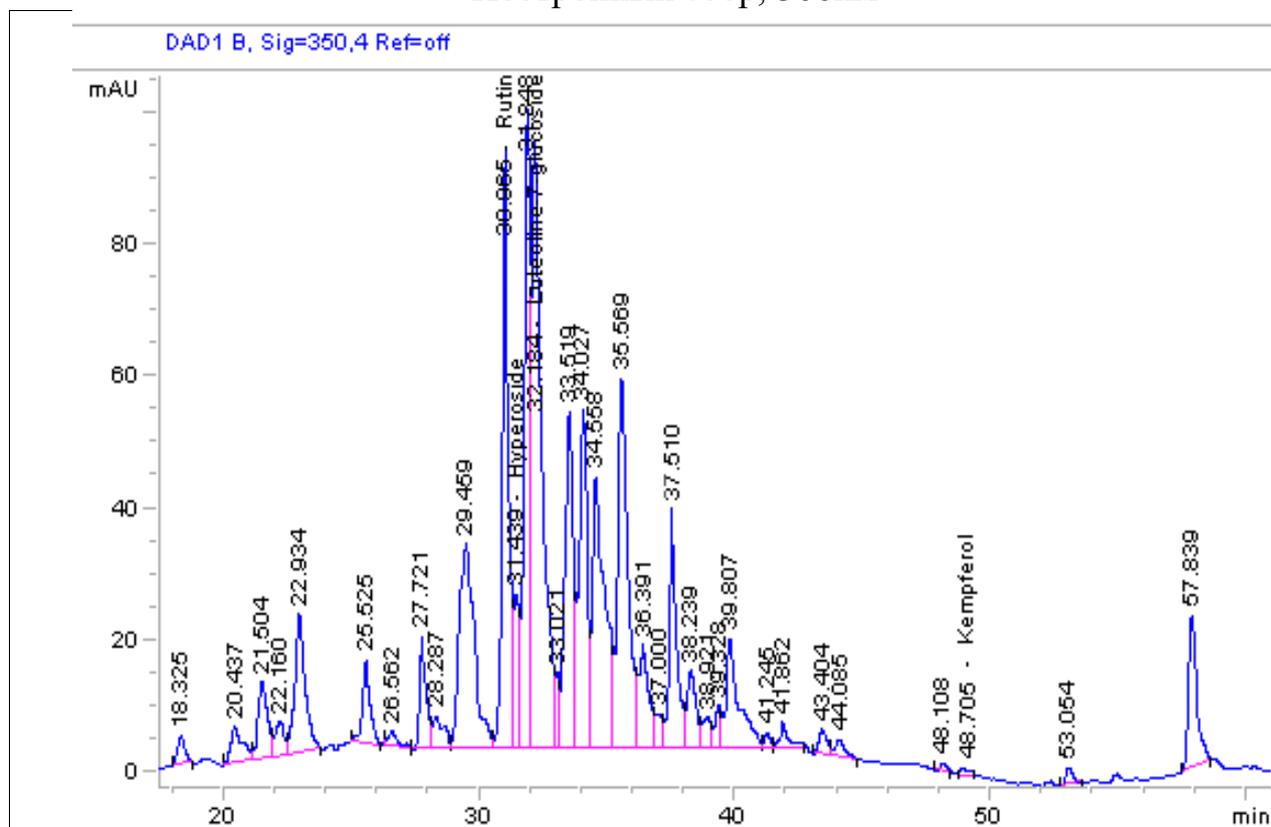


Ноотропный сбор, 280нм

Рисунок 3.7 - ВЭЖХ-УФ хроматограммы ноотропного сбора и компонентов в спиртовых извлечениях (лист 1 из 4)

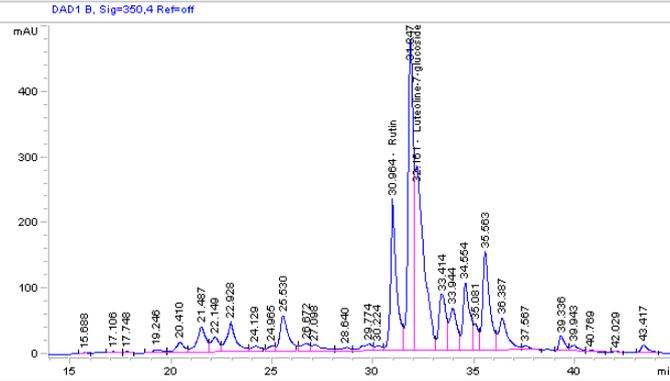


Ноотропный сбор, 300нм



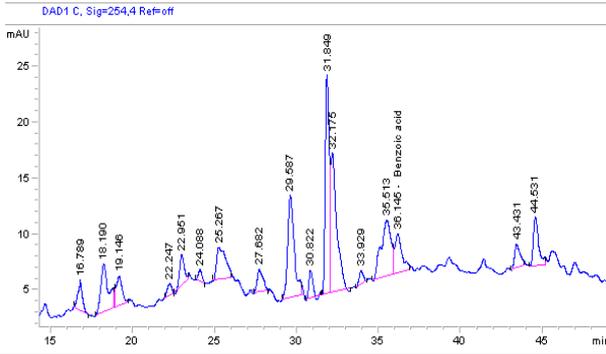
Ноотропный сбор, 350нм

Рисунок 3.7 (лист 2 из 4)

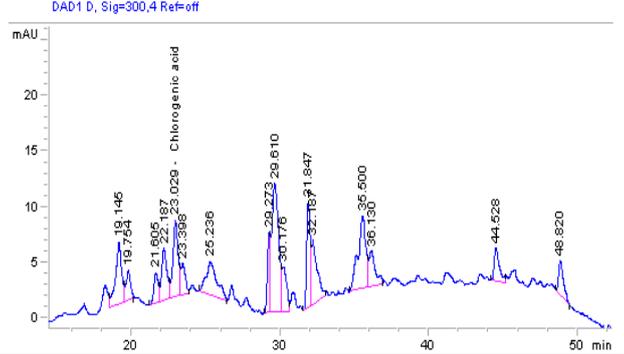


Таволги вязолистной трава, 350nm

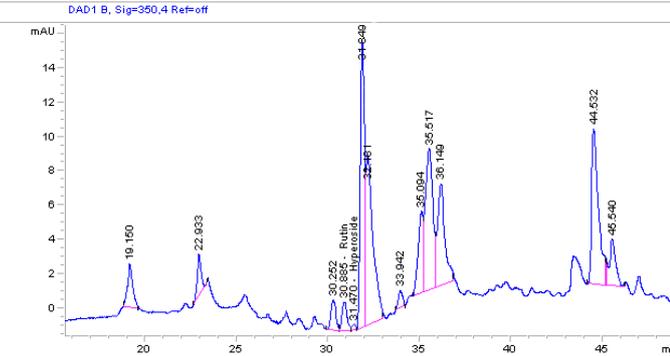
ВЭЖХ-УФ хроматограммы плодов боярышника



Боярышника плоды, 254nm

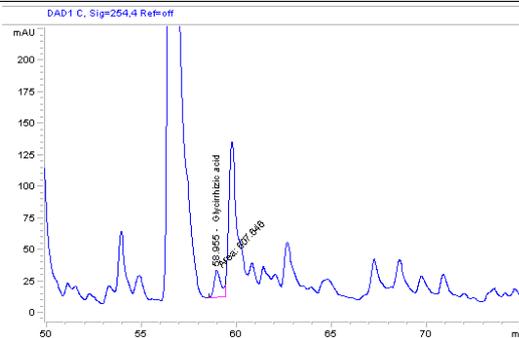


Боярышника плоды, 300nm



Боярышника плоды, 350nm

ВЭЖХ-УФ хроматограмма солодки корней



Солодки корней, 254nm

Рисунок 3.7 (лист 4 из 4)

Таблица 3.17 - Фенольный состав спиртовых извлечений ноотропного сбора и компонентов

БАС	Длина волны λ , нм	Время удерживания RT, мин	Содержание БАС, %					
			НС	ГДЛ	БТЛ	ТВТ	СК	БП
Хлорогеновая кислота	300	23,1	0,0164	0,0023	0,0458	0,0309		0,0018
Кофейная кислота	300	25,5	0,0130	0,0028		0,0370		
Феруловая кислота	300	32,2	0,0222	0,0049				
Салициловая кислота	300	38,1	0,0023			0,0052		
Галловая кислота	280	13,2	0,0669		0,2234	0,0731		
Арбутин	280	11,3	0,0990		0,3178			
Рутин	350	31,0	0,3769	0,2658	0,2067	1,1082		0,0093
Гиперозид	350	31,4	0,0569	0,1140				0,0042
Кемпферол	350	48,8	0,0551	0,0750				
Лютеолин-7-глюкозид	350	32,2	0,6322	0,1658	0,9412	2,0163		
Глицирризиновая кислота	254	58,9	0,0058				0,0468	
Бензойная кислота	254	36,3	0,0025					0,0104

Примечание здесь и в таблице 3.18: НС - ноотропный сбор; ГДЛ - гинкго двулопастного листья; БТЛ - бадана толстолистного листья; ТВТ - таволги вязолистной трава; СК - солодки корни; БП - боярышника плоды.

Анализ водных извлечений ноотропного сбора и компонентов (таблица 3.18) показал наличие тех же БАС, что и в спиртовых извлечениях, но в меньшем количестве, что можно объяснить лучшей растворимостью этих веществ в спирте. Содержание фенольных соединений в сборе в пересчете на сухое сырье составило 0,0333%. Почти половину (47%) от этой суммы, составил рутин 0,0157% в пересчете на сухое сырье. В листьях гинкго обнаружено 0,0587% соединений фенольной природы, преобладающим в сумме веществом был лютеолин-7-глюкозид 0,0277%, в чуть меньшем количестве был рутин, 0,0215%. В водных извлечениях листьев бадана содержание фенольных соединений составило 0,0674%, преобладал арбутин в количестве 0,0267%. В траве таволги обнаружено большое количество лютеолин-7-глюкозида 0,0885%, почти половина (48%) от общей суммы обнаруженных веществ. В корнях солодки обнаружено 0,0021%

глицирризиновой кислоты. И в плодах боярышника выявлены следы четырех фенольных соединений.

Таблица 3.18 - Фенольный состав водных извлечений ноотропного сбора и компонентов

БАС	Длина волны λ , нм	Время удерживания RT, мин	Содержание БАС, %					
			НС	ГДЛ	БТЛ	ТВТ	СК	БП
Хлорогеновая кислота	300	23,1	0,0003	0,0007	0,0010	0,0012		0,0001
Кофейная кислота	300	25,5	0,0002	0,0010		0,0024		
Феруловая кислота	300	32,2	0,0003	0,0010				
Салициловая кислота	300	38,1	0,0002			0,0003		
Галловая кислота	280	13,2	0,0005		0,0184	0,0304		
Арбутин	280	11,3	0,0003		0,0267			
Рутин	350	31,0	0,0157	0,0215	0,0028	0,0615		0,0005
Гиперозид	350	31,4	0,0062	0,0038				0,0007
Кемпферол	350	48,8	0,0004	0,0030				
Лютеолин-7-глюкозид	350	32,2	0,0088	0,0277	0,0185	0,0885		
Глицирризиновая кислота	254	58,9	0,0001				0,0021	
Бензойная кислота	254	36,3	0,0003					0,0001

3.8. Определение минерального состава

Минеральные вещества участвуют в различных биохимических процессах, выполняют определенные функции в организме человека [9]. Многие лекарственные растения способны концентрировать разного рода элементы, что позволяет применять их для лечения и профилактики различных патологий, в том числе интеллектуально-мнестических нарушений [50]. Многие элементы, такие как магний, цинк и кальций, являются важными компонентами клеточных структур и участниками ферментативных и нейромедиаторных процессов, играют важную роль в функционировании центральной нервной системы [22].

Макроэлемент натрий (Na) - основной ион, принимающий участие в переносе воды, глюкозы и сигналов в нервной ткани, участвует в сокращении мышц. Магний (Mg) - имеет антиоксидантные свойства, а также участвует в поддержании нормального функционирования миокардиоцитов и регулирует сократительную функцию миокарда. При больших физических и умственных нагрузках, а также при стрессе в организме увеличивается потребность в магнии. Такой элемент как медь (Cu) – отвечает за терминальный перенос электронов в дыхательной цепи (цитохромоксидаза) и образование меланина. Также, из-за недостатка данного элемента могут возникнуть нарушения в работе сердечно-сосудистой системы. Цинк (Zn) - микроэлемент, который является частью многих белков, гормонов, рецепторов; в организме выполняет роль катализатора многих ферментов, участвует в синтезе коэнзимов производных витамина B₆. Как ЛС обладает адаптогенным, нейропротекторным, антиоксидантным и иммуномодулирующим действиями. Кальций (Ca) принимает участие во многих физиологических процессах, ферментных системах и передаче нервного импульса в комплексе с магнием и витамином B₆ [22, 100]. А ультрамикроэлемент кобальт (Co) входит в состав витамина B₁₂, участвует в синтезе ДНК и аминокислот, влияет на обменные процессы в организме и на рост и созревание эритроцитов.

Методом ИСП-ОЭС определено количественное содержание 24 элементов, среди которых преобладают фосфор, кальций, калий, магний, кремний и железо (таблица 3.19). Согласно полученным результатам, лекарственное растительное сырье, входящее в состав ноотропного сбора, богато макро-, микро- и ультрамикроэлементами.

Таблица 3.19 - Содержание минеральных элементов в сборе ноотропного действия

№	Элемент	Содержание, мкг/г
Макроэлементы		
1	Ca	16678±733
2	K	14452±593
3	Mg	3070±114

4	Na	38,35±0,81
5	P	1875±51
Микроэлементы		
6	Al	54,30±2,55
7	B	31,11±1,52
8	Cu	5,71±0,21
9	Fe	103,02±4,33
10	Mn	44,68±0,98
11	Pb	0,99±0,04
12	Sr	51,96±1,82
13	Zn	27,60±0,61
14	Si	126,00±4,53
Ультрамикроэлементы		
15	Ag	0,056±0,003
16	Ba	18,47±0,76
17	Be	0,203±0,010
18	Co	32,25±1,42
19	Cr	1,08±0,04
20	Ga	4,94±0,19
21	Ni	0,702±0,033
22	V	3,93±0,106
23	Ti	0,053±0,003
24	Zr	0,016±0,001

В результате проведенных исследований был выявлен ряд накопления элементов в порядке уменьшения их количественного содержания: Ca > K > Mg > P > Si > Fe > Al > Sr > Mn > Na > Co > B > Zn > Ba > Cu > Ga > V > Cr > Pb > Ni > Be > Ag > Ti > Zr.

Согласно литературным данным, многие лекарственные растения, обогащенные флавоноидами, одновременно являются и кремнефильными растениями [55]. Как уже упоминалось, все компоненты ноотропного сбора содержат флавоноиды, чем можно объяснить значительное содержание кремния

126,00 мкг/г. А содержание 51,96 мкг/г стронция можно объяснить высокой подвижностью этого элемента и быстрым поглощением его растениями [41].

3.9. Определение антиоксидантной активности

Как свидетельствуют данные научной литературы о компонентах сбора и результаты изучения химического состава сбора, в него входят различные группы БАС, многие из которых обладают антиоксидантным действием.

В результате эксперимента была доказана антиоксидантная активность 70% спиртового извлечения сбора (1:100). Для расчёта IC₅₀ был построен график зависимости антиоксидантной активности от концентрации, где выбирали отрезок на прямолинейном участке графика. Таким образом, было установлено значение IC₅₀ для ноотропного сбора, которое составило $0,037 \pm 0,002$ мг/мл в пересчете на сухой остаток или $0,203 \pm 0,009$ мг/мл в пересчете на флавоноиды. При этом разведение исходного спиртового извлечения, при котором 50% радикаловДФП связывается с тестируемым образцом составило 1:101,36. Из этого можно сделать вывод, что разработанный ноотропный сбор обладает достаточно высокой антиоксидантной активностью даже при больших разведениях, что объясняется содержанием природных антиоксидантов.

Выводы к главе 3

1. С помощью общепринятых фармакопейных реакций в ноотропном сборе определены основные группы БАС: флавоноиды, дубильные вещества, аминокислоты, полисахариды и сапонины.

2. Проведен качественный анализ фенольных соединений сбора методом ТСХ. В сборе было обнаружено не менее 9 соединений, из которых идентифицированы при сравнении со стандартными образцами рутин, гиперозид, кверцетин и хлорогеновая кислота.

3. Разработана методика спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сборе ноотропного действия. Проведена

валидация разработанной методики по таким параметрам, как линейность, прецизионность (повторяемость и промежуточная прецизионность) и правильность. Установлено содержание в ноотропном сборе суммы флавоноидов в пересчете на рутин $2,13 \pm 0,08\%$.

4. Установлено содержание в сборе дубильных веществ в количестве $7,23 \pm 0,26\%$. Наибольшее содержание наблюдается в листьях бадана $19,51 \pm 0,18\%$ и в траве таволги $12,49 \pm 0,49\%$.

5. Определено содержание полисахаридов методом гравиметрии в компонентах: в листьях гинкго $4,38 \pm 0,21\%$, в траве лабазника $5,45 \pm 0,27\%$, в листьях бадана $4,14 \pm 0,20\%$, в плодах боярышника $8,47 \pm 0,34\%$ и корнях солодки $5,70 \pm 0,26\%$. Суммарное содержание полисахаридов в сборе $3,30 \pm 0,15\%$.

6. Методом спектрофотометрии определено содержание свободных аминокислот в сборе в количестве $2,84 \pm 0,09\%$. Методом обращенно-фазовой хроматографии выявлено наличие 15 свободных и 16 связанных аминокислот, семь из которых являются незаменимыми (треонин, валин, метионин, лизин, изолейцин, лейцин, фенилаланин). В составе свободных аминокислот преобладали пролин $0,50\%$ и незаменимая аминокислота изолейцин $0,29\%$. Связанных аминокислот обнаружено $3,22\%$, среди которых преобладали серин $0,75\%$, валин $0,79\%$ и изолейцин $0,68\%$.

7. В листьях бадана толстолистного и в ноотропном сборе методом ТСХ подтверждено присутствие фенологликозида арбутина. Содержание суммы фенологликозидов в пересчете на арбутин в ноотропном сборе составило $15,77 \pm 0,77\%$, а в листьях бадана $24,32 \pm 1,01\%$.

8. Методом ВЭЖХ был установлен хроматографический профиль сбора. Обнаружено 12 соединений фенольной природы, сумма которых составила $1,35\%$ и $0,03\%$ в спиртовом и водном извлечениях соответственно. В спиртовом извлечении сбора преобладал лютеолин-7-глюкозид $0,63\%$ и рутин $0,38\%$.

9. Изучен минеральный состав сбора ноотропного действия. Установлено наличие 24 минеральных элементов. Среди макроэлементов преобладает кальций и калий, среди микроэлементов железо и кремний, а среди ультрамикроэлементов

кобальт.

10. Спектрофотометрическим методом, основанным на реакции ингибирования радикалаДФПГ, доказана антиоксидантная активность ноотропного сбора. Значение IC50 для спиртового 70% извлечения сбора составило $0,037 \pm 0,002$ мг/мл в пересчете на сухой остаток или $0,203 \pm 0,009$ мг/мл в пересчете на сумму флавоноидов.

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ХАРАКТЕРИСТИК ПОДЛИННОСТИ И НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА НООТРОПНОГО СБОРА

4.1. Изучение внешних признаков

Сбор лекарственного растительного сырья, обладающего ноотропным действием, получают путем механического смешивания предварительно высушенных и измельченных до частиц размером не более 5 мм листьев гинкго билоба, листьев бадана толстолистного, травы лабазника вязолистного, корней солодки, плодов боярышника (рисунок 4.1). После измельчения сырья пыль отсеивают сквозь сито с диаметром отверстий 0,18-0,2 мм. Ноотропный сбор имеет соотношение компонентов, % по массе:

гинкго двулопастного листа (<i>Ginkgo biloba folia</i>)	50 %
бадана толстолистного листа (<i>Bergeniae crassifoliae folia</i>)	20 %
таволги вязолистной трава (<i>Filipendulae ulmariae herba</i>)	20 %
солодки корни (<i>Glycyrrhizae radices</i>)	5 %
боярышника плоды (<i>Crataegi fructus</i>)	5 %



Рисунок 4.1 - Внешний вид измельчённого сбора ноотропного действия

Ноотропный сбор представляет собой смесь частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм, состоящих из кусочков листьев, черешков, цветков, стеблей, плодов, корней, различной формы, преимущественно зеленого цвета с вкраплениями желтого, красного, белого, коричневого, специфического запаха и специфического вяжущего вкуса.

Согласно требованиям ОФС.1.4.1.0020.15 «Сборы» ГФ РФ XIV изд. присутствие каждого компонента определяется после разборки сбора на отдельные компоненты. Результаты визуального анализа внешних признаков каждого компонента и сбора представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 - Описание внешних признаков ноотропного сбора и его компонентов

Параметр	Сбор ноотропного действия	Компоненты				
		Листья гинкго двулопастного	Листья бадана толстолистного	Трава таволги вязолистной	Корни солодки	Плоды боярышника
Форма	Смесь частиц кусочков листьев, черешков, цветков, стеблей, плодов, корней, различной формы	Кусочки листьев различной формы	Кусочки листьев, черешков, различной формы	Кусочки листьев, цветков, стеблей различной формы	Кусочки корней различной формы	Кусочки плодов различной формы
Размеры	Частицы сырья, проходящие сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм					
Цвет	Преобладает зеленый цвет с вкраплениями и желтого, красного, белого, коричневого	Зеленый с вкраплениями и желто-зеленого	Зеленый, буро-зеленый с вкраплениями и белого и красного	Зеленый, темно-зеленый с вкраплениями и желтого и светло-желтого	Желтый, желто-коричневый	Коричнево-красный с белыми вкраплениями
Запах	Специфический	Характерный	Специфический, печеный	Специфический ароматный	Слабый	Отсутствует
Вкус (водн. извлечение)	Специфический, вяжущий	Кисловатый, специфический	Вяжущий	Горьковато-вяжущий	Приторный, раздражающий	Сладковатый

4.2. Микроскопические признаки сбора и его компонентов

Изучение микроскопических признаков сбора проводится в соответствии с ОФС.1.4.1.0020.15 «Сборы» ГФ РФ XIV изд. после разбора на отдельные компоненты, а также исследуется мелкая фракция после просеивания через сито (0,25 мм) для общей характеристики сбора.

4.2.1. Бадана толстолистного листья

При изучении микроскопических признаков измельченных листьев бадана толстолистного готовили микропрепараты листа и поперечные срезы черешка. Так как листья бадана кожистые, препаровальной иглой аккуратно снимали верхний и нижний эпидермис, после чего рассматривали их под микроскопом. Лист бадана имеет аномоцитный тип устьичного комплекса. Клетки эпидермиса имеют 5-6-угольную форму с четковидными утолщениями. Размер клеток варьируется в зависимости от формы клеток: округлые диаметром 17-30 мкм, а более вытянутые клетки длиной 45-55 мкм и шириной 20-30 мкм. На эпидермисе встречаются круглые железки диаметром 40-55 мкм, которые расположены в углублениях с обеих сторон листа и состоят из многоклеточной ножки и многоклеточной круглой головки. (Рисунок 4.2). В мезофилле, особенно вдоль главной жилки листа, встречаются друзы оксалата кальция 15-20 мкм.

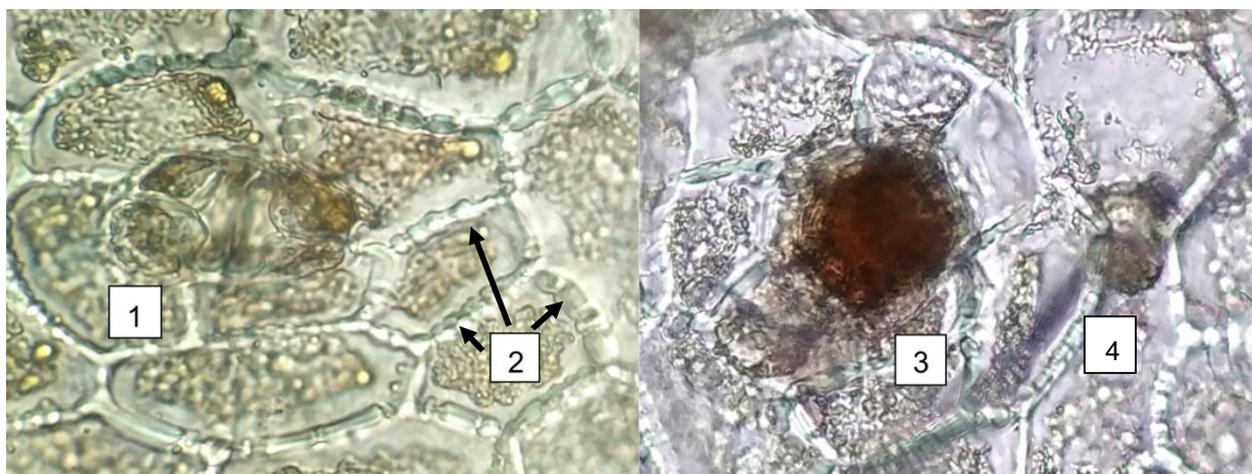


Рисунок 4.2 - Микропрепарат эпидермиса листа бадана толстолистного. (ув. x 400): 1 – аномоцитный устьичный комплекс; 2 – четковидные утолщения; 3 – железка; 4 – друза оксалата кальция

При рассмотрении поперечного среза черешка листьев были обнаружены беспорядочно расположенные, иногда группами по 2-3, открытые коллатеральные пучки длиной 250-425 мкм и шириной 175-375 мкм. На срезах заметны друзы оксалата кальция, расположенные в основном под эпидермисом черешка и вокруг проводящих пучков, а также присутствует аэренхима с воздухоносными полостями (Рисунок 4.3).

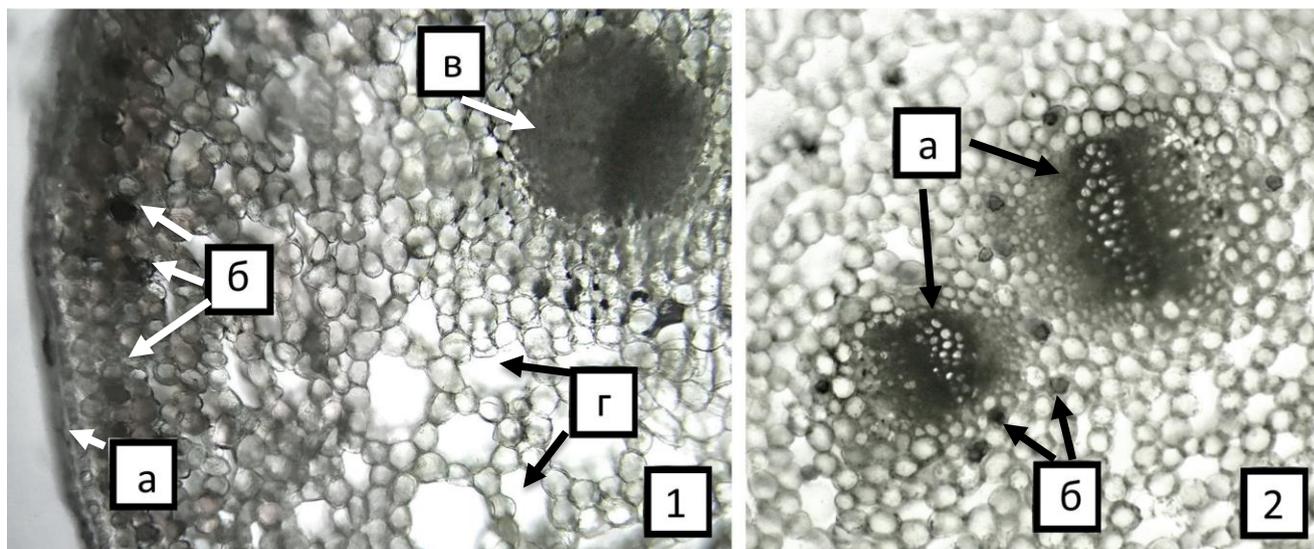


Рисунок 4.3 - Поперечный срез черешка бадана толстолистного (ув. х 100): 1 – фрагмент поперечного среза черешка: а – эпидермис черешка; б – друзы оксалата кальция; в – коллатеральный пучок; г - аэренхима с воздухоносными полостями; 2 – фрагмент поперечного среза черешка: а - открытые коллатеральные пучки, б – друзы оксалата кальция

4.2.2. Гинкго двулопастного листа

Для изучения микроскопических признаков листьев гинкго, фрагменты листьев и черешка варили в растворе NaOH 5%, разведенном с водой в соотношении 1:3 (взамен 1:1, как указано в НД) так как они подвержены почернению в более концентрированном растворе щелочи. Для изучения анатомо-диагностических признаков гинкго двулопастного, аналогично бадану, снимали нижний и верхний эпидермис листа, делали поперечный срез черешка в верхней (у листовой пластинки) и в нижней части (у места прикрепления) и поперечный срез листа. Верхний эпидермис листа гинкго представлен вытянутыми клетками 3-4-

угольной формы размером 60-120 мкм на 20-50 мкм с сильно извилистыми стенками, имеющими четковидные утолщения, но не столь ярко выраженными по сравнению с листьями бадана. Аномоцитный устьичный комплекс располагается на нижней стороне листа и имеет диаметр 60-90 мкм (Рисунок 4.4.).

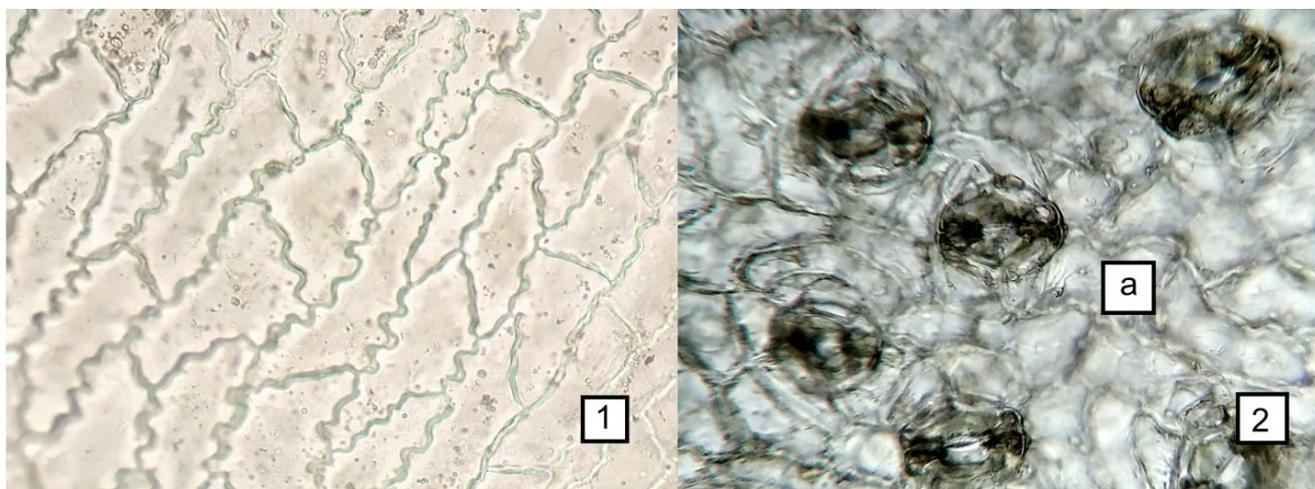


Рисунок 4.4 - Микропрепарат листа с поверхности гинкго двулопастного (ув. х 400): 1 – фрагмент верхнего эпидермис; 2 – фрагмент нижнего эпидермиса: а - устьичный комплекс аномоцитного типа

На поперечном срезе листа гинкго заметен эпидермис с кутикулой с верхней и нижней стороны листа, за которым следует несколько слоев клеток мезофилла, содержащий вместилища диаметром 30-50 мкм (иногда достигает 100 мкм) (Рисунок 4.5). Ширина листа, где проходит жилка в среднем 280-320 мкм, а в узкой части 175-185 мкм.

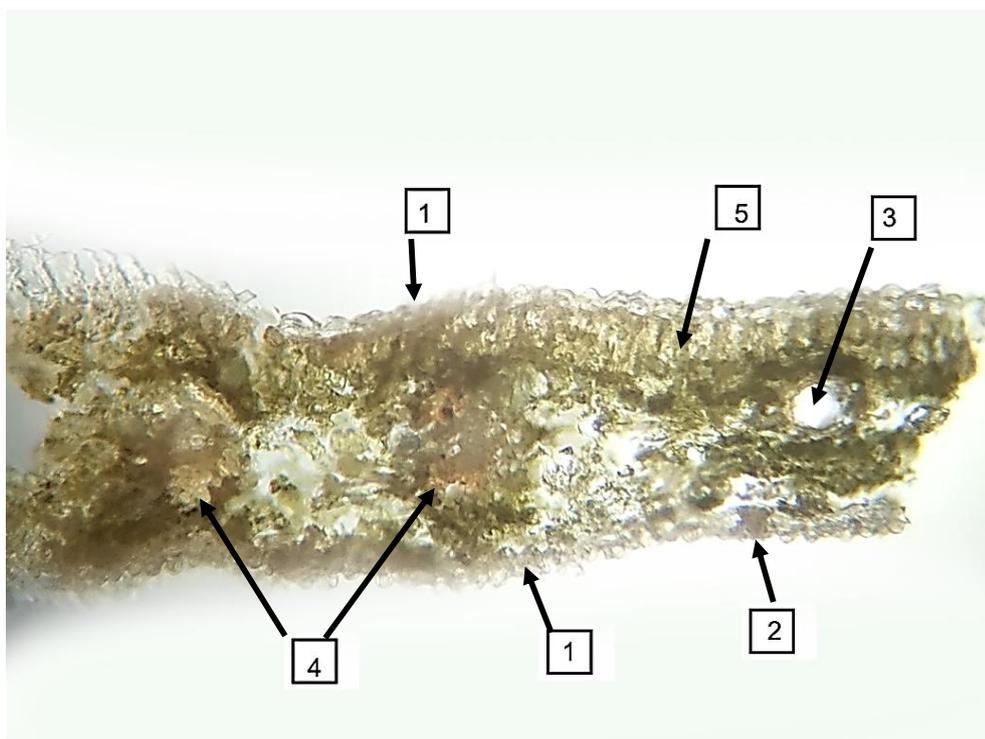


Рисунок 4.5 - Микропрепарат поперечного среза листа гинкго двулопастного (ув. х 100): 1 – кутикула; 2 – устьица в поперечном сечении; 3 – полость вместилища; 4 – жилка листа; 5 – мезофилл листа

Поперечные срезы черешка гинкго, сделанные в верхней и в нижней части, отличаются по форме. Срез, сделанный у места крепления черешка, более вытянут, имеет выраженную выемку посередине и 4 проводящих пучка. В то время как срез у листовой пластины имеет округло-овальную форму, 2 небольшие выпуклости по краям и 2 проводящих пучка. Пучки шириной 400-500 мкм и высотой 300-375 мкм. Покровной тканью черешка является эпидермис, под которым в 2-3 ряда расположена одревесневшая гиподерма. В паренхиме черешка встречаются вместилища диаметром 75-150 мкм и крупные друзы оксалата кальция (Рисунок 4.6). Проводили окрашивание срезов черешка, последовательной обработкой флороглюцином и концентрированной хлористоводородной кислотой (ксилема пучков, одревесневшая гиподерма) цифра 3 на рисунке 4.6. Изученные признаки листьев и черешков листьев гинкго соответствовали разделу «Микроскопические признаки» ФС.2.5.0010.15 ГФ XIV изд., Т. 4. «Гинкго двулопастного листа».

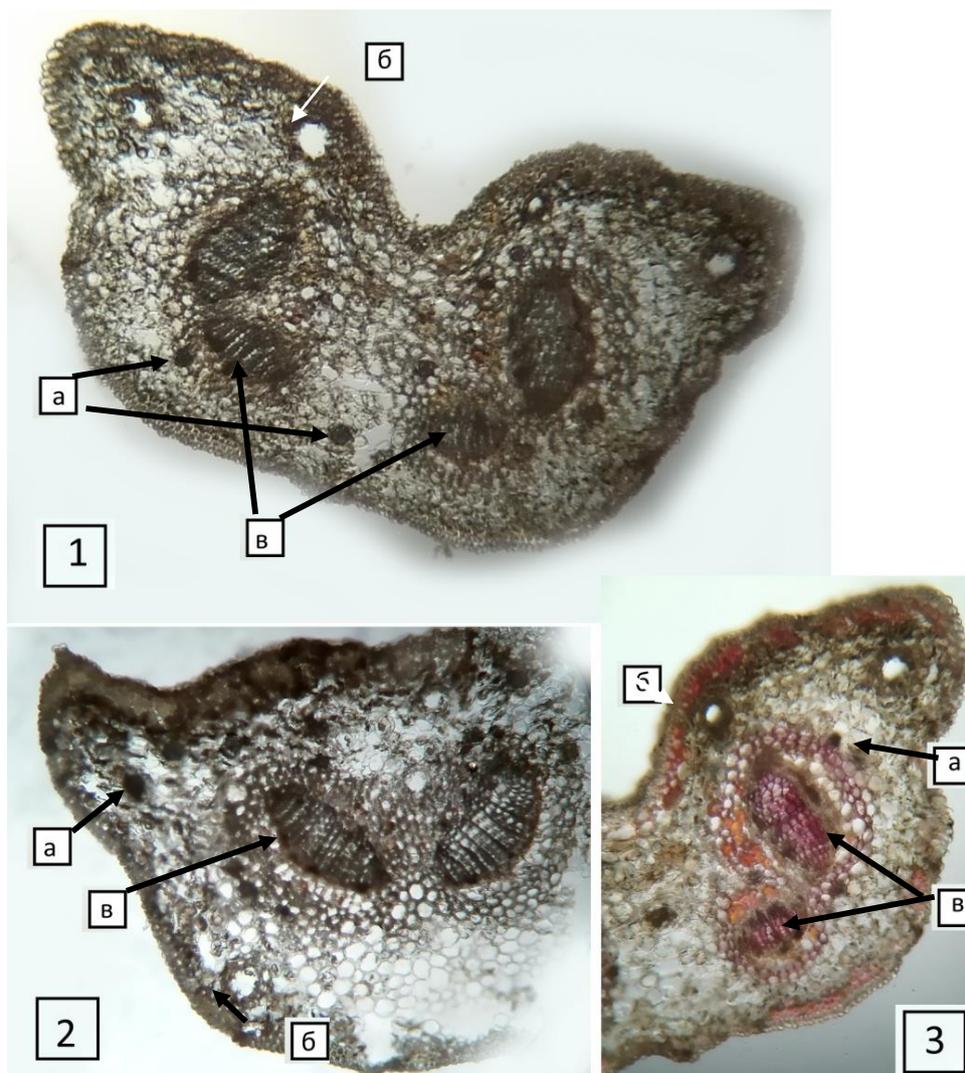


Рисунок 4.6 - Микропрепарат поперечного среза черешка листа гинкго двулопастного (ув. х 100): а – друза оксалата кальция; б – вместилище; в – проводящий пучок. 1 – поперечный срез черешка у места крепления; 2 – поперечный срез черешка у листовая пластины; 3 – фрагмент поперечного среза черешка, окрашенный флороглюцином и концентрированной соляной кислотой

4.2.3. Таволги вязолистной трава

Для исследования анатомо-диагностических признаков измельченного сырья травы таволги вязолистной рассматривали микропрепарат листа с поверхности, поперечный срез стебля и микропрепарат цветка. Для листьев таволги характерны слегка вытянутые прямоугольные и слегка извилистые клетки эпидермиса шириной 7-15 мкм и длиной 15-22 мкм (Рисунок 4.7 - 2), аномоцитный устьичный комплекс и наличие простых одноклеточных волосков с заостренным концом на эпидермисе и по краю листа длиной 35-85 мкм (Рисунок 4.8 - 1а), а вдоль жилки

одноклеточных длинных извилистых волосков с нижней стороны листа длиной 60-170 мкм (Рисунок 4.8 - 2а), а также железистых волосков с многоклеточной головкой и двурядной ножкой. В мезофилле листа таволги находится большое количество крупных шарообразных друз оксалата кальция диаметром 10-25 мкм (Рисунок 4.7 -1а).

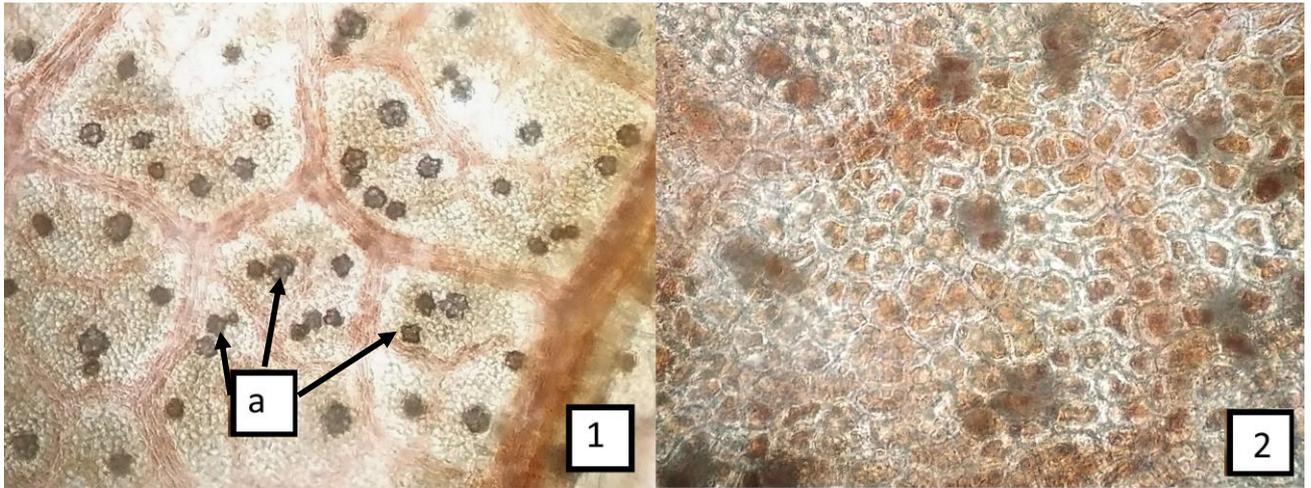


Рисунок 4.7 - Микропрепарат листа с поверхности таволги вязолистной (ув. x 100): 1 – фрагмент нижней стороны листа таволги вязолистной: а – друзы оксалата кальция; 2 – фрагмент верхней стороны листа таволги вязолистной

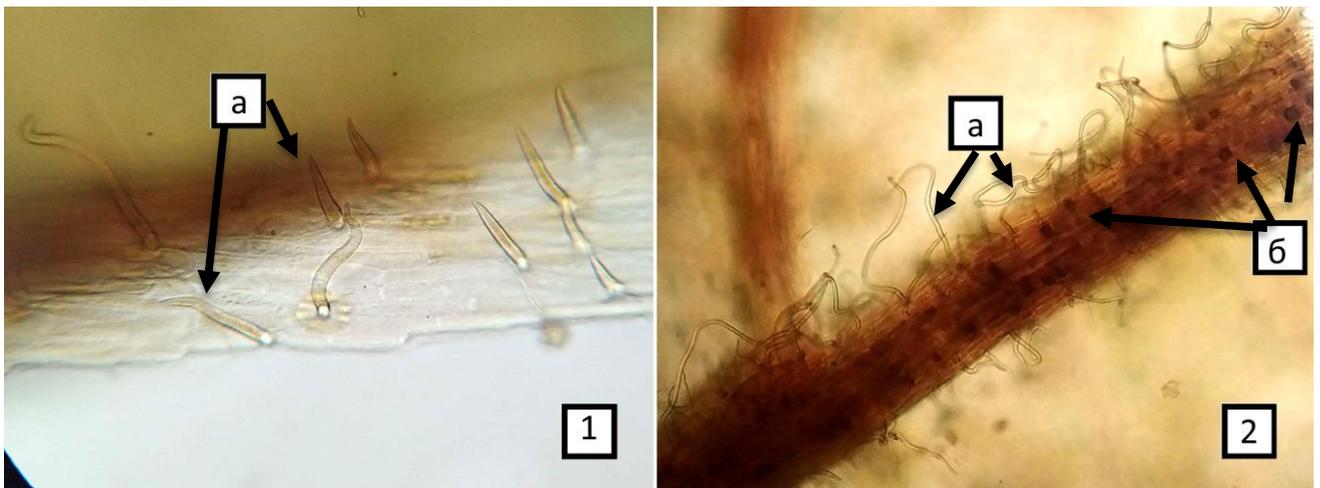


Рисунок 4.8 - Микропрепарат листа с поверхности таволги вязолистной (ув. x 400): 1 – фрагмент листа таволги вязолистной: а - простые одноклеточные волоски 2 – фрагмент жилки листа таволги вязолистной: а - простые одноклеточные длинные извилистые волоски; б – друзы оксалата кальция

Цветок таволги вязолистной характеризуется многоугольными слегка извилистыми клетками эпидермиса венчика и наличием устьиц с внешней стороны венчика. Цветоножка и внешняя поверхность чашечки цветка покрыта простыми длинными извилистыми одноклеточными волосками (Рисунок 4.9). На микропрепарате чашечки цветка видны сосуды и призматические кристаллы оксалата кальция (Рисунок 4.10).



Рисунок 4.9 - Микропрепарат цветка таволги вязолистной при малом увеличении: 1 – фрагмент цветка таволги вязолистной с цветоножкой (ув. х 40): а – простые одноклеточные длинные извилистые волоски 2 – фрагмент микропрепарата цветка таволги вязолистной, тычиночные нити с пыльником (ув. х 100)

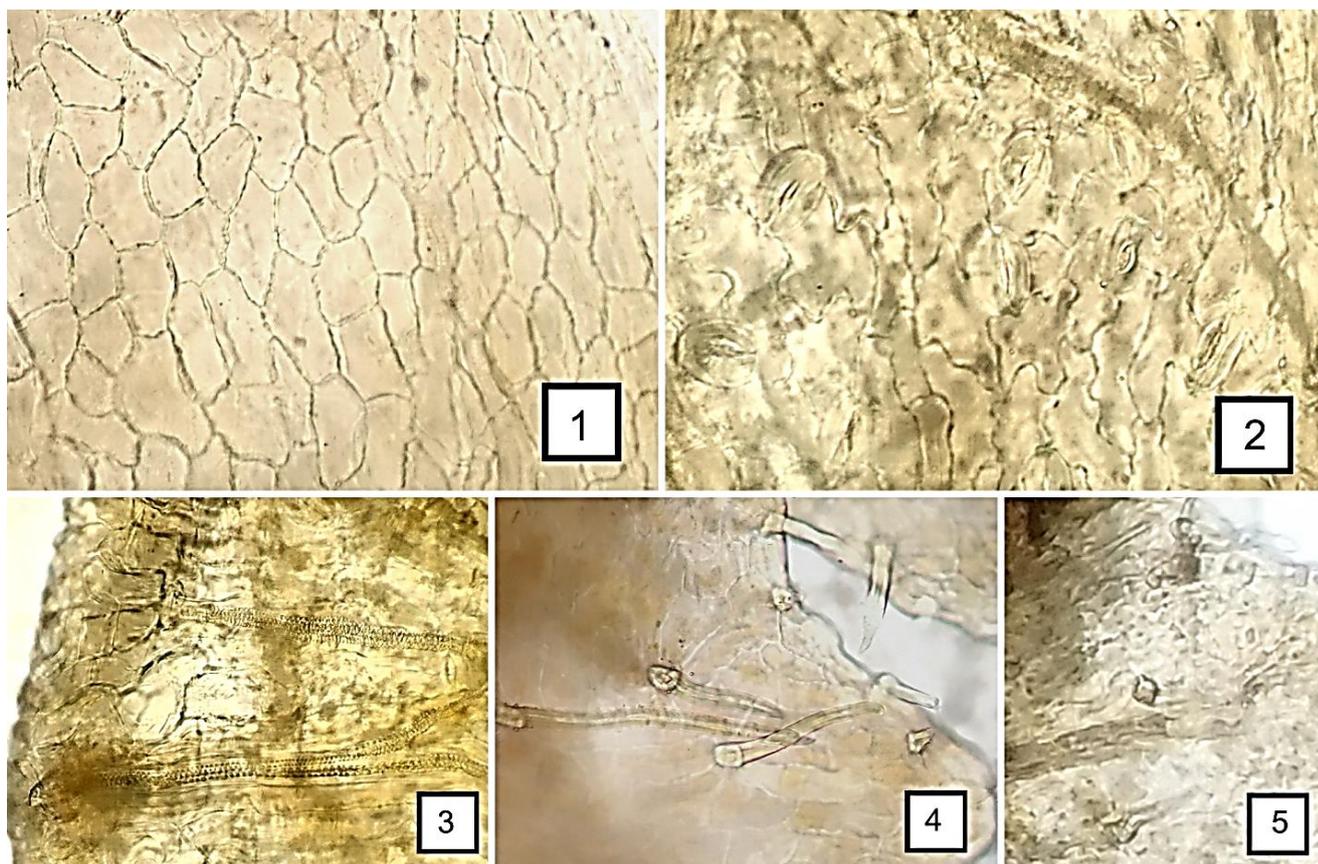


Рисунок 4.10 - Микропрепарат цветка таволги вязолистной (ув. х 400): 1 – фрагмент эпидермиса венчика цветка таволги вязолистной; 2 –фрагмент эпидермиса венчика цветка таволги вязолистной с устьицами; 3 – фрагмент венчика цветка таволги с сосудами; 4 – простые одноклеточные волоски на чашелистиках; 5 – призматический кристалл оксалата кальция

Поперечный срез стебля таволги вязолистной имеет покровную ткань эпидерму, под которой располагаются колленхима и ассимиляционная паренхима. На срезе видны открытые коллатеральные пучки шириной 200-350 мкм и высотой 350-500 мкм, расположенные по кругу в один ряд, над которыми располагается перициклическая склеренхима. Сердцевина представлена паренхимой (Рисунок 4.11).

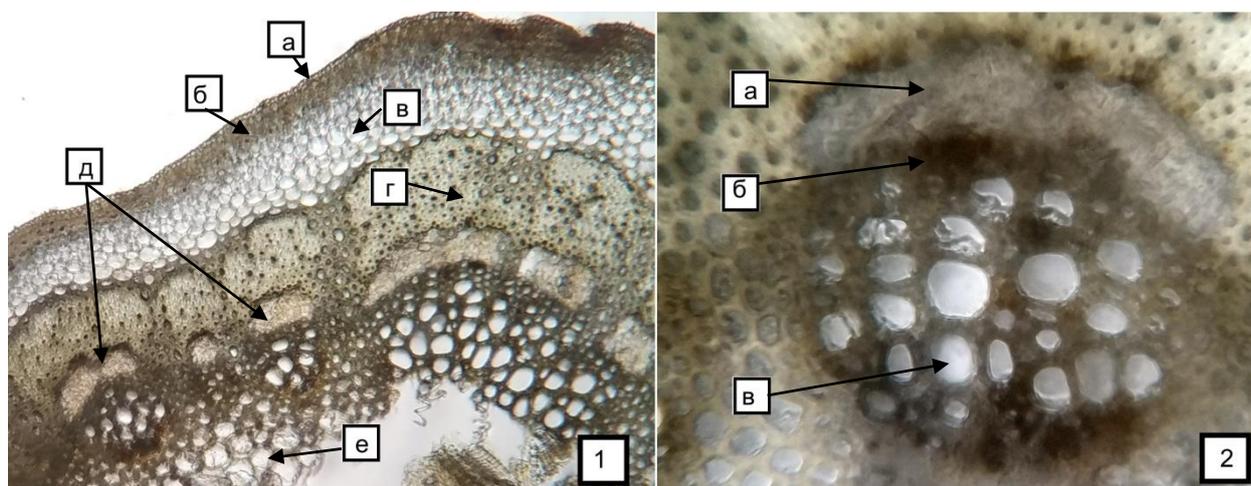


Рисунок 4.11 - Поперечный срез стебля таволги вязолистной: 1 – фрагмент поперечного среза стебля таволги вязолистной (ув. х 100): а – эпидерма; б – колленхима; в - ассимиляционная паренхима; г - перициклическая склеренхима; д – открытые коллатеральные пучки; е – паренхима сердцевины стебля; 2 – открытый коллатеральный пучок стебля таволги вязолистной (ув. х 400): а – флоэма; б – камбий; в - ксилема

4.2.4. Боярышника плоды

Плоды боярышника входят в состав сбора в виде измельченного сырья, поэтому для анализа плодов готовили давленные микропрепараты. Эпидермис плодов представлен многоугольными клетками с равномерно утолщенными стенками, на котором редко встречаются простые одноклеточные волоски (Рисунок 4.12). Мякоть плода содержит округлые клетки с хромопластами оранжевого цвета, друзы и призматические кристаллы оксалата кальция, также встречаются группы каменных клеток (Рисунок 4.13). Изученные признаки плодов боярышника соответствовали разделу «Микроскопические признаки» ФС.2.5.0061.18 ГФ РФ XIV изд., Т. 4, «Боярышника плоды».



Рисунок 4.12 - Фрагменты эпидермиса давленного микропрепарата плодов боярышника 1 – клетки эпидермиса (ув. х 400); 2 – простой волосок (ув. х 100)

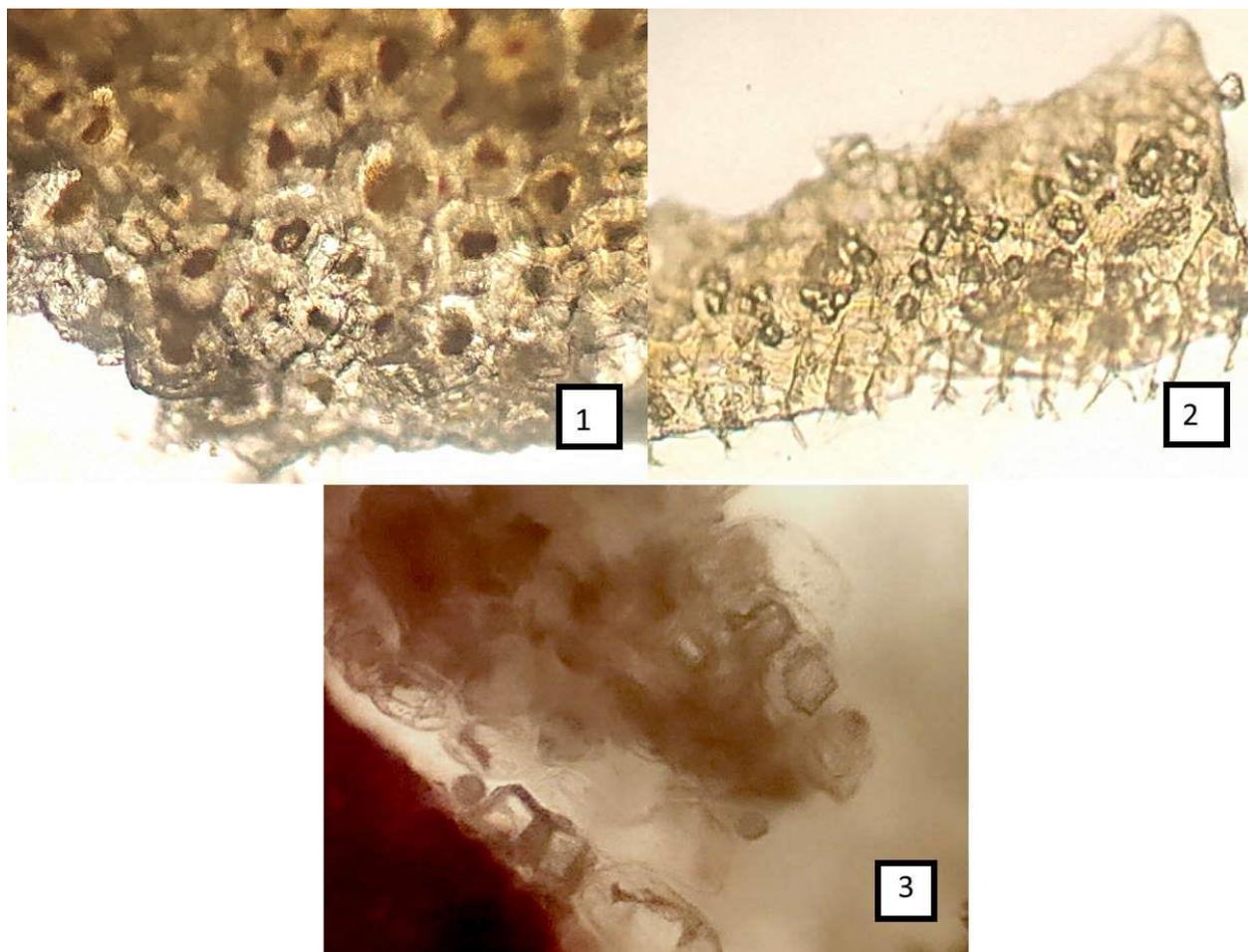


Рисунок 4.13 - Фрагменты давленного микропрепарата плодов боярышника (ув. х 400): 1 – группа каменных клеток; 2 - фрагмент эндокарпия с клетками паренхимы и кристаллами оксалата кальция; 3 – друзы и призматические кристаллы оксалата кальция

4.2.5. Солодки корни

Корни солодки, входят в состав сбора в виде измельченного сырья, поэтому, аналогично плодам боярышника, для анализа корней готовили давленные микропрепараты. При рассмотрении давленного микропрепарата корня солодки наблюдается многорядная пробка, состоящая из многоугольных клеток (Рисунок 4.14 - 1). Встречаются фрагменты округлых паренхимных клеток с призматическими кристаллами оксалата кальция (Рисунок 4.14 - 2), фрагменты сетчатых сосудов со щелевидными окаймленными порами (Рисунок 4.16), группы волокон с кристаллоносной обкладкой (Рисунок 4.15). Изученные признаки корней солодки соответствовали разделу «Микроскопические признаки» ФС.2.5.0040.15 ГФ РФ XIV изд., Т. 4, «Солодки корни».

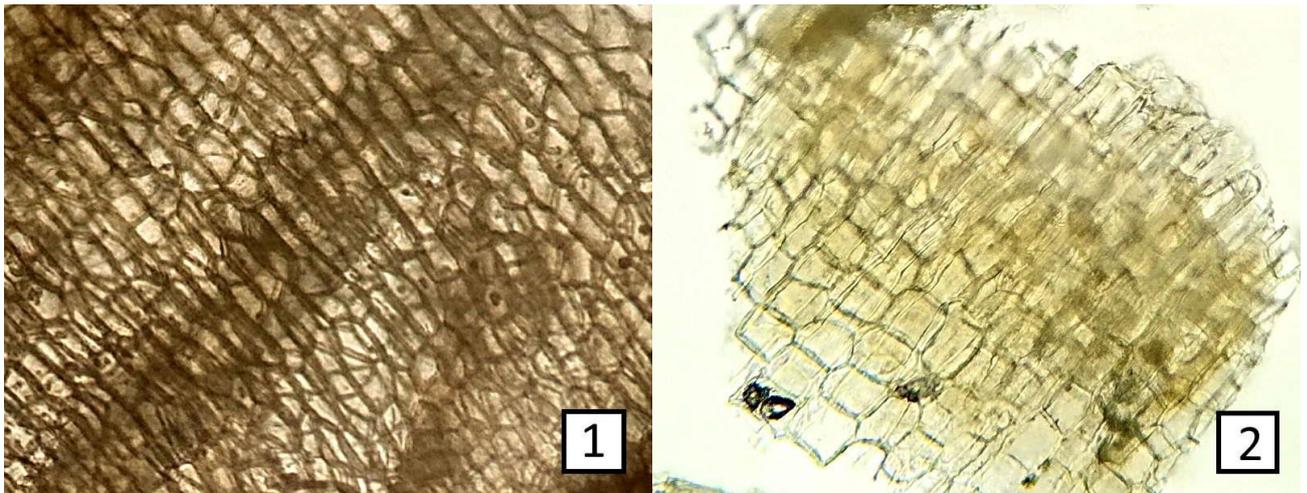


Рисунок 4.14 - Фрагменты давленного микропрепарата корня солодки (ув. x 100): 1 – пробка; 2 – фрагмент паренхимы с кристаллами оксалата кальция

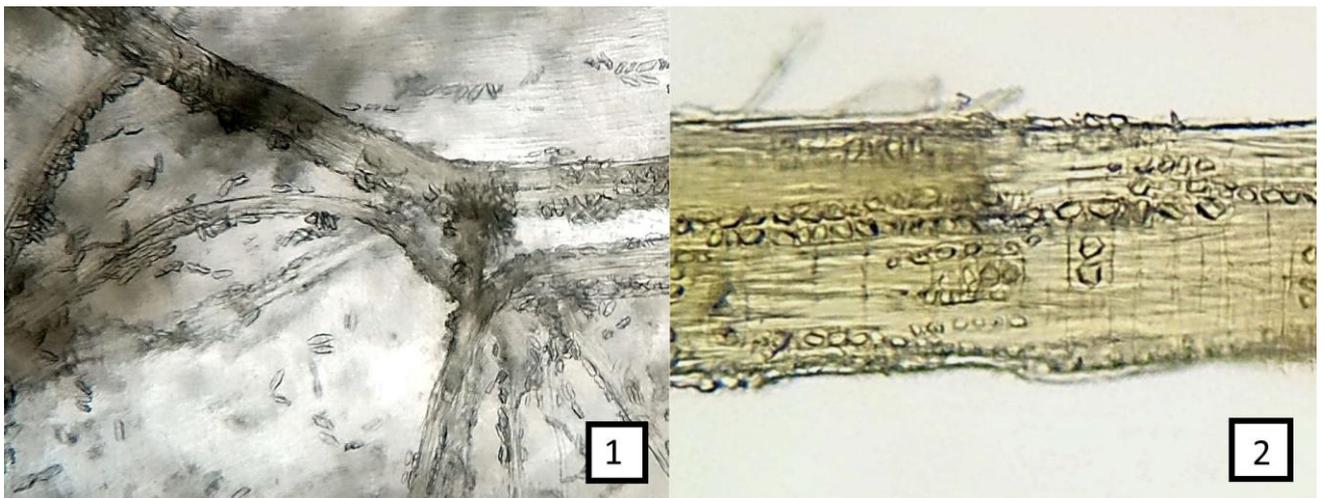


Рисунок 4.15 - Фрагменты давленного микропрепарата корня солодки: 1 – механическая ткань с кристаллоносной обкладкой (ув. x 100); 2 - волокна с кристаллоносной обкладкой (ув. x 400)

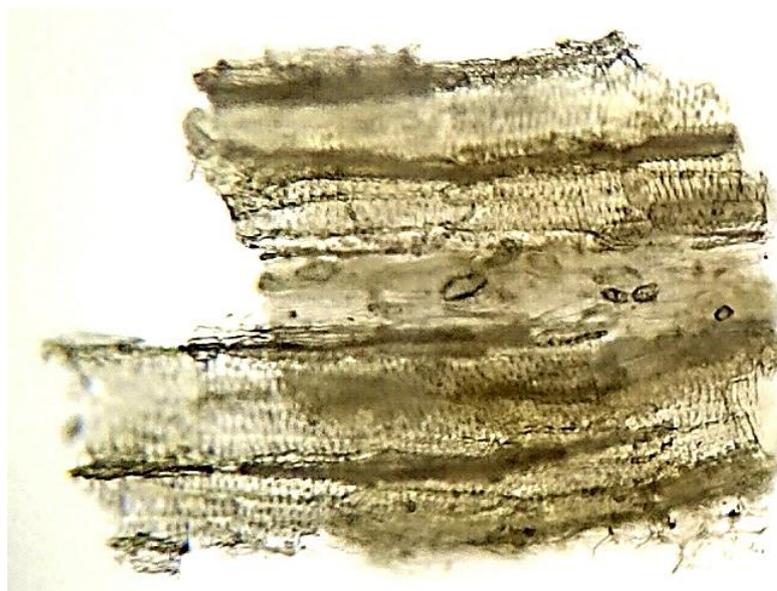


Рисунок 4.16 - Фрагмент сетчатых сосудов с окаймленными щелевидными порами корня солодки (ув. x 100)

4.2.6. Анализ мелкой фракции

Для общей характеристики сбора по микроскопическим признакам было целесообразно провести анализ мелкой фракции. Для этого ноотропный сбор просеивали через сито с диаметром отверстий 0,25 мм. После этого прошедшие через сито частицы сырья нагревали в растворе натрия гидроксида 2,5% до кипения, промывали и микроскопировали.

Для идентификации компонентов сбора, представленных листьями, было проведено сравнение анатомо-диагностических признаков листьев, результаты которого представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2 - Анатомио-диагностические признаки листьев, входящих в состав сбора

Ткань		Описание		
		Листья гинкго двулопастного	Листья бадана толстолистного	Трава таволги вязолистной
Эпидермис	Форма клеток	Вытянутые клетки неправильной или 3-4-угольной формы с извилистыми стенками, имеют	Крупные многоугольные клетки с мелкоизвилистыми стенками имеют ярко выраженные четковидные утолщения	Слегка вытянутые прямоугольные слегка извилистые

		четковидные утолщения		
	Тип устьичного аппарата	Аномоцитный (только с верхней стороны листа)	Аномоцитный	Аномоцитный
	Трихомы	Отсутствуют	Утопленные железки с многоклеточной головкой и многоклеточной ножкой	Простые одноклеточные волоски, длинные простые одноклеточные сильно извилистыми волоски, железистые волоски с многоклеточной головкой и двурядной ножкой
Мезофилл	Секреторные структуры	Вместилища (заметны на поперечном срезе листа)	Отсутствуют	Отсутствуют
	Кристаллические включения	Отсутствуют	Иногда встречаются друзы оксалата кальция	Большое количество крупных друз оксалата кальция шарообразной формы

При анализе мелкой фракции сбора можно идентифицировать все описанные ранее диагностические признаки, присущие всем входящим в сбор компонентам. Но значительную часть фрагментов, обнаруженных при анализе, идентифицировать не удастся. Чаще других можно обнаружить для каждого из компонентов следующие фрагменты с характерными признаками:

- листья гинкго двулопастного (эпидермис листьев);
- листья бадана толстолистного (эпидермис листьев);
- трава таволги вязолистной (кусочки листьев с характерными волосками, кусочки листьев с большим количеством шарообразных друз, пыльники и тычиночные нити цветка);
- корни солодки (фрагменты пробки и волокон с кристаллоносной обкладкой);
- плоды боярышника (фрагменты эпидермиса, группы каменистых клеток).

Наиболее встречающиеся и узнаваемые фрагменты компонентов сбора представлены на рисунке 4.17.

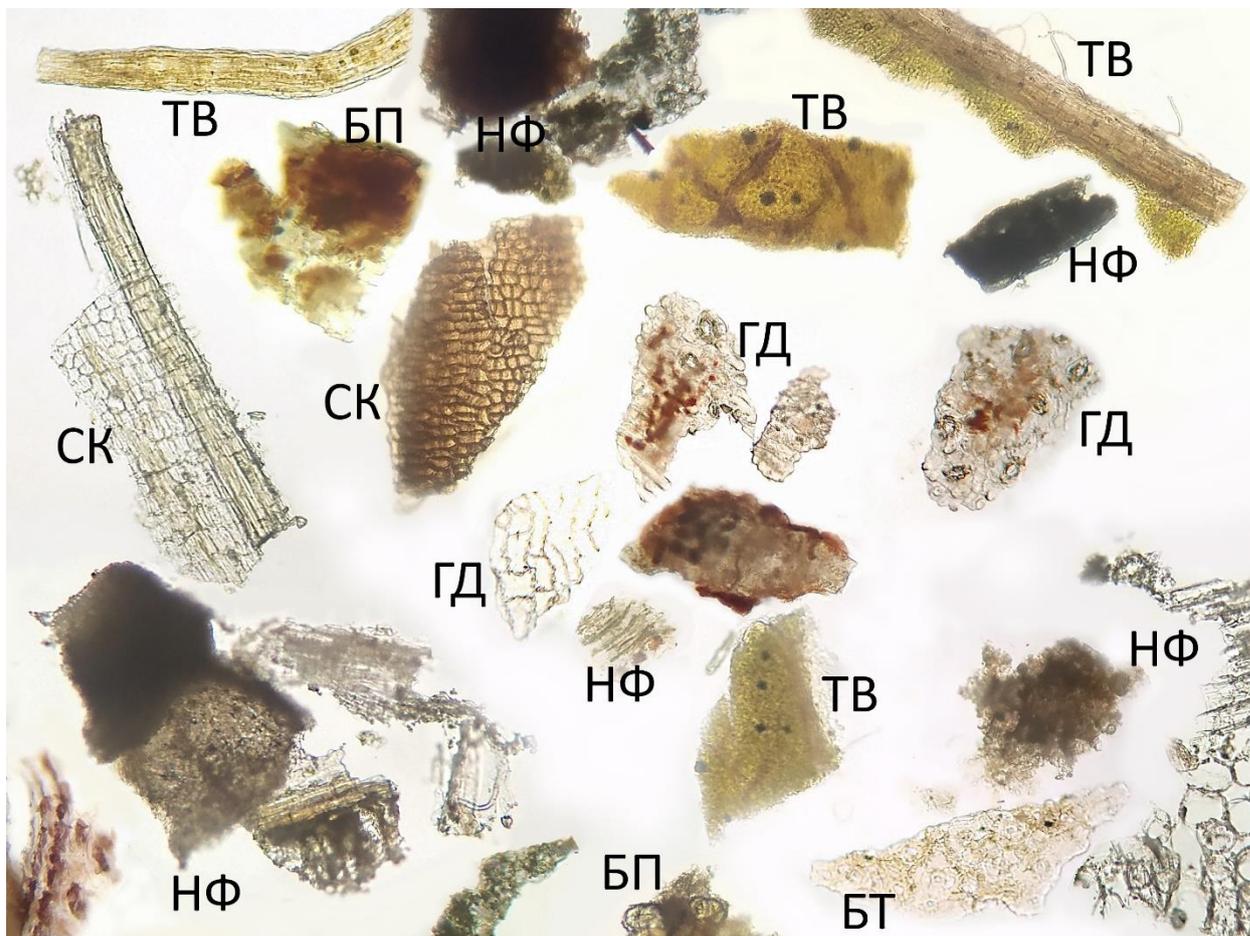


Рисунок 4.17 - Мелкая фракция ноотропного сбора (ув. х 100): ГД – фрагмент гинкго двулопастного; БТ – фрагмент бадана толстолистного; ТВ – фрагмент таволги вязолистной; СК – фрагмент корней солодки; БП – фрагмент плодов боярышника; НФ – не диагностируемый фрагмент

4.3. Определение некоторых числовых показателей сбора и его компонентов

Для более полной характеристики ноотропного сбора были определены некоторые числовые характеристики (влажность, зола общая, зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте). Определение проводили гравиметрически по фармакопейным методикам. Определение влажности проводили в 5 повторностях, золы – 3 повторностях ($P=0,95$). Результаты представлены в таблицах 4.3, 4.4.

Таблица 4.3 - Определение влажности в сборе и его компонентах

ЛРС	\bar{X}	ΔX	P, %	t(P;f)	E,%
Сбор ноотропного действия	5,63	0,13	95	2,78	2,24
Листья гинкго двулопастного	4,00	0,13	95	2,78	3,15
Листья бадана толстолистного	4,92	0,24	95	2,78	4,96
Трава таволги вязолистной	5,93	0,28	95	2,78	4,73
Корни солодки	4,45	0,13	95	2,78	2,94
Плоды боярышника	3,11	0,12	95	2,78	3,78

Таблица 4.4 - Содержание золы общей и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте для сбора и его компонентов

Показатель	ЛРС	\bar{X}	ΔX	P, %	t(P;f)	E,%
Зола общая	Сбор ноотропного действия	9,26	0,39	95	4,3	4,23
	Листья бадана толстолистного	8,85	0,35	95	4,3	3,97
	Трава таволги вязолистной	6,50	0,31	95	4,3	4,82
Зола нерастворимая в хлористоводородной кислоте	Сбор ноотропного действия	4,57	0,15	95	4,3	3,33
	Листья бадана толстолистного	4,10	0,15	95	4,3	3,68
	Трава таволги вязолистной	2,97	0,13	95	4,3	4,42

Влажность определяли для сбора и всех компонентов ввиду того, что эти значения были необходимы для последующих расчётов количественного содержания на сухое сырье. Значения показателей зола общая и зола нерастворимая для фармакопейных объектов, а именно для плодов боярышника, корней солодки и листьев гинкго проводили однократно. Полученные значения соответствовали требованиям нормативной документации (были не более верхнего значения, указанного в ФС на конкретное сырье).

4.4. Определение экстрактивных веществ

Как показал анализ литературных данных и химический анализ компонентов сбора, он содержит большое количество БАС, относящихся к различным группам веществ, которые имеют различную способность растворяться в том или ином растворителе. Для последующей разработки оптимальной лекарственной формы из ноотропного сбора, целесообразно было определить содержания экстрактивных веществ, извлекаемых водой и спиртом в различных концентрациях. Результаты определения суммы экстрактивных веществ, извлекаемых водой в ноотропном сборе представлены в таблице 4.5.

Таблица 4.5 - Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой в ноотропном сборе и в компонентах

ЛРС	\bar{X}	ΔX	S^2	S	P, %	t(0,95;6)	E,%
Сбор ноотропного действия	36,35	1,23	1,37375	1,17207	95	2,57	3,38
Листья гинкго двулопастного	31,31	0,87	0,68682	0,82874	95	2,57	0,82874
Листья бадана толстолистного	49,08	1,20	1,31859	1,14830	95	2,57	2,45
Трава таволги вязолистной	36,59	1,19	1,27632	1,12974	95	2,57	3,24
Корни солодки	40,23	1,60	2,31591	1,52181	95	2,57	3,97
Плоды боярышника	41,54	2,03	3,73732	1,93321	95	2,57	4,88

В ноотропном сборе и в траве таволги содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой практически равно и составило $36,35 \pm 1,23\%$ и $36,59 \pm 1,19\%$, соответственно. Наибольшее содержание отмечено в листьях бадана $49,08 \pm 1,20\%$, а наименьшее в листьях гинкго $31,31 \pm 0,87\%$. В корнях солодки и плодах боярышника содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой составило $40,23 \pm 1,60\%$ и $41,54 \pm 2,03\%$, соответственно.

Для разработки спиртосодержащих лекарственных форм (настойки/экстракты) для ноотропного сбора также определяли сумму

экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом различной концентрации (30%, 50%, 70% и 96%), результаты представлены в таблице 4.6 и на рисунке 4.18.

Таблица 4.6 - Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом различной концентрации в ноотропном сборе

Концентрация спирта	\bar{X}	ΔX	S^2	S	$P, \%$	$t(P;f)$	$E, \%$
30%	37,07	0,63	0,36398	0,60330	95	2,57	1,71
50%	38,75	1,43	1,85414	1,36167	95	2,57	3,69
70%	40,87	2,02	3,71215	1,92669	95	2,57	4,95
96%	25,58	1,28	1,48742	1,21960	95	2,57	5,00



Рисунок 4.18 - Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом различной концентрации в ноотропном сборе

Как видно из таблицы 4.6 и рисунка 4.18 наибольшее содержание экстрактивных веществ из ноотропного сбора $40,87\% \pm 2,02\%$ извлекается спиртом 70%. А наименьшее при извлечении 96% спиртом, где содержание экстрактивных веществ составило $25,58\% \pm 1,28\%$. При извлечении 30% и 50% спиртом, сумма экстрактивных веществ составила $37,07\% \pm 0,63\%$ и $38,75\% \pm 1,43\%$, что также немного меньше чем при извлечении 70% спиртом. Таким образом, целесообразно

было измерить сумму экстрактивных веществ, извлекаемых 70% спиртом и для компонентов сбора именно такой концентрацией спирта (таблица 4.7).

Таблица 4.7 - Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70% в ноотропном сборе и в компонентах

ЛРС	\bar{X}	S^2	S	ΔX	P, %	t(0,95;6)	E,%
Сбор ноотропного действия	40,87	2,02	3,71215	1,92669	95	2,57	4,95
Листья гинкго двулопастного	31,82	2,19691	1,48220	1,56	95	2,57	4,89
Листья бадана толстолистного	50,84	0,21636	0,46515	0,49	95	2,57	0,96
Трава таволги вязолистной	38,70	0,81854	0,90473	0,95	95	2,57	2,45
Корни солодки	33,33	0,14945	0,38659	0,41	95	2,57	1,22
Плоды боярышника	41,25	3,087337	1,757082	1,84	95	2,57	4,47

В листьях бадана было обнаружено наибольшее содержание экстрактивных веществ, извлекаемых 70% спиртом, $50,84 \pm 0,49\%$. В плодах боярышника содержание экстрактивных веществ, извлекаемых 70% спиртом примерно, как в сборе $41,28 \pm 1,84\%$. Чуть меньше в траве таволги $38,70 \pm 0,95\%$. Наименьшее содержание отмечено в корнях солодки $33,33 \pm 0,41\%$ и листьях гинкго $31,82 \pm 1,56\%$.

4.5. Подходы к стандартизации ноотропного сбора

Для стандартизации ноотропного сбора исследовали разделы НД «Подлинность» («Внешние признаки», «Микроскопические признаки», «Определение основных групп БАС») и «Испытания» («Влажность», «Зола общая», «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте», «Количественное определение»).

Для ноотропного сбора установлены следующие внешние признаки: сбор представляет собой смесь частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм, состоящих из кусочков листьев, черешков, цветков, стеблей, плодов, корней, различной формы, преимущественно зеленого цвета с вкраплениями желтого,

красного, белого, коричневого, специфического запаха и специфического вяжущего вкуса.

Для подтверждения присутствия каждого вида ЛРС, входящего в состав, сбор разбирают на компоненты, для которых характерны следующие внешние признаки:

- кусочки листьев различной формы с ровным краем, а также тонких черешков зеленого с вкраплениями желто-зеленого цвета, на листьях при рассмотрении заметно дихотомическое жилкование листа (листья гинкго двулопастного);
- кусочки кожистых листьев различной формы буро-зеленого цвета, с крупными кусочками черешков белого цвета различной формы, иногда с остатками листа на черешке с вкраплением красно-коричневого (листья бадана толстолистного);
- кусочки листьев различной формы темно-зеленого цвета, фрагменты стеблей соломенного цвета иногда с вкраплениями фиолетового с цветками бело-желтого цвета, на листьях выделяются белые жилки (трава таволги вязолистной);
- волокнистые желтые кусочки корней, иногда с темно-коричневой пробкой (корни солодки);
- кусочки плодов различной формы красного и красно-коричневого цвета, иногда с вкраплениями белого (плоды боярышника).

Компоненты сбора относятся к разным морфологическим группам, что значительно упрощает идентификацию фрагментов, обнаруженных при анализе. Несмотря на то, что в сборе преобладают листья (листья гинкго, листья бадана и листья таволги в составе травы), они легко поддаются анализу. Так, листья бадана более кожистые и преимущественно зелено-коричневого цвета, в то время как листья таволги темно-зеленые более хрупкие и с белыми выделяющимися жилками, а листья гинкго легко опознаются по кусочкам с ровным краем и с заметным дихотомическим жилкованием. Корни солодки представлены волокнистыми желтыми (иногда с коричневой пробкой) кусочками с приятным

сладким вкусом. Плоды боярышника, это кусочки плодов красного или красно-коричневого цвета.

После разбора сбора на компоненты и макроскопического анализа проводят микроскопический анализ. Для приготовления микропрепаратов из листьев бадана, травы таволги и корней солодки предлагается использовать 5% раствор NaOH, разведенный с водой 1:1, а для листьев гинкго в разведении 1:3. Кусочки плодов боярышника кипятят в воде очищенной. Для изучения микроскопических признаков листьев бадана препаровальной иглой снимают верхний и нижний эпидермис и рассматривают его под микроскопом. Для идентификации таволги и гинкго в сборе готовят микропрепараты листа с поверхности. А из кусочков корней солодки и плодов боярышника давленные микропрепараты. Проведенное ранее изучение микроскопии компонентов сбора позволило выделить следующие диагностически значимые для установления подлинности сбора микроскопические признаки для каждого из компонентов:

- верхний эпидермис представлен вытянутыми клетками 3-4-угольной формы с сильно извилистыми стенками, которые имеют четковидные утолщения, на нижней стороне листа клетки имеют извилистые стенки и менее вытянутую форму, а также расположены аномоцитные устьичные комплексы (листья гинкго двулопастного);

- лист характеризуется наличием аномоцитного устьичного комплекса, клетки эпидермиса имеют 5-6-угольную форму с ярко выраженными четковидными утолщениями, встречаются друзы оксалата кальция вдоль главной жилки листа и круглые железки, которые расположены в углублениях с обеих сторон листа, состоящие из многоклеточной ножки и многоклеточной круглой головки (листья бадана толстолистного);

- для микропрепарата листьев характерны слегка вытянутые прямоугольные слегка извилистые клетки эпидермиса, аномоцитный устьичный комплекс и наличие простых одноклеточных волосков с заостренным концом по краю листа, а также вдоль жилки, одноклеточных длинных извилистых волосков с

нижней стороны листа вдоль жилки, а также железистых волосков с многоклеточной головкой и двурядной ножкой; в мезофилле находится большое количество крупных шарообразных друз оксалата кальция (микропрепарат листа с поверхности травы таволги вязолистной);

- при рассмотрении микропрепарата наблюдается многорядная пробка, состоящая из многоугольных клеток; встречаются фрагменты округлых паренхимных клеток с призматическими кристаллами оксалата кальция, фрагменты сетчатых сосудов со щелевидными окаймленными порами, группы волокон с кристаллоносной обкладкой (корни солодки);

- эпидермис плодов представлен многоугольными клетками, на котором редко встречаются простые одноклеточные волоски; мякоть плода содержит округлые клетки с хромопластами оранжевого цвета, друзы и призматические кристаллы оксалата кальция, также встречаются группы каменистых клеток (плоды боярышника).

Все вышеизложенные анатомо-диагностические признаки сбора представлены на рисунке 4.19.

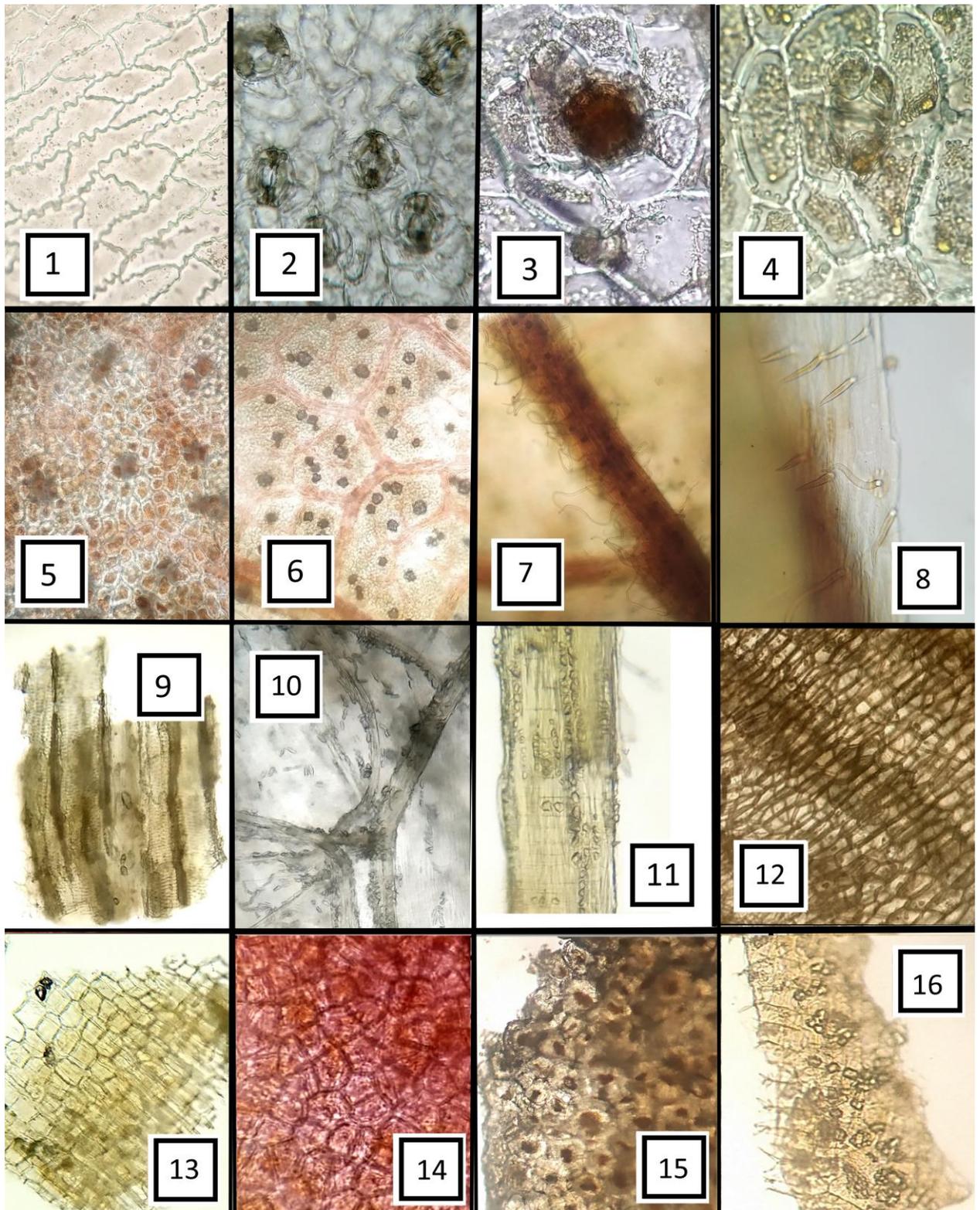


Рисунок 4.19 - Анатомио-диагностические признаки сбора:

1 - фрагмент верхнего эпидермиса листа гинкго двулопастного. (ув. х 400); 2 - фрагмент нижнего эпидермиса листа гинкго двулопастного. (ув. х 400); 3 - фрагмент эпидермиса листа бадана толстолистного с железкой и друзой оксалата кальция (ув. х 400); 4 - фрагмент эпидермиса листа бадана толстолистного с аномоцитным устьичным комплексом (ув. х 400); 5 - фрагмент микропрепарата листа с поверхности таволги вязолистной (ув. х 200); 6 - фрагмент микропрепарата листа с поверхности таволги вязолистной (ув. х 100); 7 - фрагмент жилки листа

таволги вязолистной с простыми длинными одноклеточными извилистыми волосками (ув. х 400); 8 – фрагмент жилки листа таволги вязолистной с простыми одноклеточными волосками 9 - фрагмент сетчатых сосудов с окаймленными щелевидными порами корня солодки (ув. х 200); 10 - механическая ткань с кристаллоносной обкладкой (ув. х 200); 11 - волокна с кристаллоносной обкладкой корней солодки (ув. х 400); 12 - фрагмент пробки корня солодки (ув. х 200); 13 – паренхимные клетки коры корней солодки с призматическими кристаллами оксалата кальция (ув. х 200); 14 - фрагмент клеток эпидермиса плодов боярышника (ув. х 200); 15 - группа каменистых клеток плодов боярышника (ув. х 200); 16 - фрагмент клеток мякоти плодов боярышника с кристаллами оксалата кальция

В результате проведенного информационно-аналитического исследования, а также изученного в ходе собственного исследования качественного состава и количественного содержания основных групп БАС в сборе ноотропного действия было установлено, что в сборе преобладают фенольные соединения. Наиболее широко распространенной группой БАС и хорошо изученной по спектру фармакологических свойств является группа флавоноидов, присутствие которых установлено в каждом из компонентов. В связи с этим для установления характеристик подлинности, таких как определение основных групп БАС подраздел ТСХ и качественные реакции, а также определения подраздела количественное определение, была выбрана именно эта группа. В ходе исследования установлено в достаточном количестве содержание суммы дубильных веществ, а именно $7,23 \pm 0,26\%$ и содержание аминокислот $1,165\%$, поэтому было решено включить обнаружение перечисленных групп БАС методом качественных реакций в проект нормативной документации на сбор:

- при добавлении к 1 мл водного извлечения сбора (1:10) 1 мл алюминия хлорида раствора 1% должно наблюдаться желтое окрашивание раствора (флавоноиды);
- при добавлении к 1 мл водного извлечения сбора (1:10) 2-3 капель железа(III) аммония сульфата раствора 1% должно наблюдаться черно-зеленое окрашивание (дубильные вещества);
- при добавлении к 2 мл водного извлечения сбора (1:10) 2 мл 0,1% свежеприготовленного раствора нингидрина при последующем осторожном нагревании, должно появляться устойчивое красно-фиолетовое окрашивание (аминокислоты).

Для подраздела «Тонкослойная хроматография» использованы результаты определения фенольных соединений, описанной ранее в разделе 3.1. Методика имеет следующий вид: подвижная фаза безводная муравьиная кислота – вода – этилацетат (10:8:34); использование в качестве стандартов рутин, кверцетин, гиперозида и хлорогеновой кислоты; детектирование дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1% и макроголом 400 раствором спиртовым 5%, при последующем прогревании. В результате в ноотропном сборе обнаруживается не менее 9 зон адсорбции, из которых идентифицируется при сравнении с стандартными образцами рутин, гиперозид, кверцетин и хлорогеновая кислота.

По результатам проведенных на данном этапе исследований (только на лабораторных образцах), мы сочли целесообразно установить рекомендованные значения некоторых числовых показателей для характеристики качества сбора (таблица 4.8).

Для разработки раздела фармакопейной статьи «Количественное определение» было решено установить предельные значения для трех показателей: 1) сумма флавоноидов в пересчете на рутин (методика определения и валидация приведены в разделе 3.2); 2) экстрактивные вещества, извлекаемые водой; 3) экстрактивные вещества, извлекаемые 70% спиртом. Выбор сразу двух экстрагентов был обусловлен тем, что не определена окончательная лекарственная форма, которая будет наиболее оптимальной для разработанного ноотропного сбора. Таким образом, установленные рекомендованные значения представлены в таблице 4.8.

Таблица 4.8 - Нормы показателей качества для ноотропного сбора

Показатель	Методика	Норма
Влажность	ОФС 1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратах»	Не более 9%
Зола общая	ОФС 1.5.3.0013.15 «Зола общая»	Не более 11%
Зола нерастворимая в	ОФС 1.5.3.0005.15 «Зола	Не более 6%

хлористоводородной кислоте	нерастворимая в хлористоводородной кислоте»	
Количественное определение	1) ОФС 1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»; 2) ОФС 1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	1) Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,5 %; 2) экстрактивные вещества, извлекаемые водой не менее 30 %; 3) экстрактивные вещества извлекаемые 70% спиртом не менее 35%.

Выводы к главе 4

1. Изучены и описаны внешние признаки сбора и его компонентов. Ноотропный сбор представляет собой смесь частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм, состоящих из кусочков листьев, черешков, цветков, стеблей, плодов, корней, различной формы, преимущественно зеленого цвета с вкраплениями желтого, красного, белого, коричневого, специфического запаха и специфического вяжущего вкуса.

2. Исследованы и определены основные анатомо-диагностические признаки компонентов сбора и сбора в целом. Диагностическими элементами можно считать: а) верхний эпидермис листа представлен вытянутыми клетками с сильно извилистыми стенками и четковидными утолщениями, на нижней стороне листа клетки более округлой формы, и большое количество аномоцитных устьичных комплексов (листья гинкго двулопастного); б) клетки эпидермиса листа имеют 5-6-угольную форму с ярко выраженными четковидными утолщениями, встречаются друзы оксалата кальция и круглые железки (листья бадана толстолистного); в) наличие на фрагментах листьев простых одноклеточных волосков с заостренным концом, а также одноклеточных длинных извилистых волосков с нижней стороны листа вдоль жилки, в мезофилле находится большое количество крупных шарообразных друз оксалата кальция (трава таволги вязолистной); г) многорядная пробка, состоящая из многоугольных клеток, группы

волокон с кристаллоносной обкладкой (корни солодки); д) эпидермис плодов состоит из многоугольных клеток, мякоть плода содержит округлые клетки с хромопластами, друзами и призматическими кристаллами оксалата кальция, встречаются группы каменистых клеток (плоды боярышника).

3. Проанализирована мелкая фракция сбора. Выделены наиболее характерные и часто встречающиеся во время анализа фрагменты каждого компонента ноотропного сбора: фрагменты верхнего и нижнего эпидермиса листьев гинкго двулопастного с характерной формой клеток и устьичным комплексом, фрагменты эпидермиса листьев бадана толстолистного с характерными четковидными стенками, устьичным комплексом и железками, кусочки листьев таволги с характерными волосками, с большим количеством шарообразных друз, пыльники и тычиночные нити цветков, фрагменты пробки и волокон с кристаллоносной обкладкой корней солодки и фрагменты эпидермиса и группы каменистых клеток плодов боярышника, а также в поле зрения встречаются не диагностируемые частицы сырья.

4. Проведено определение отдельных числовых показателей для сбора и его компонентов (влажность, зола общая и зола нерастворимая в хлористоводородной кислоте.)

5. Установлено содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой в ноотропном сборе $36,35 \pm 1,23\%$. Доказано, что оптимальным экстрагентом для определения экстрактивных веществ является 70% спирт ($40,87\% \pm 2,02\%$).

6. В результате выполнения исследования был разработан подход к стандартизации сбора для создания проекта нормативной документации на сбор ноотропного действия. Описан раздел «Подлинность» (внешние и микроскопические признаки, тонкослойная хроматография, качественные реакции). Для раздела «Испытания» были предложены рекомендованные значения для влажности, золы общей, золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, и количественного определения (суммы флавоноидов в пересчете на рутин, экстрактивных веществ, извлекаемых водой и экстрактивных веществ, извлекаемых 70% спиртом).

ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Ноотропные препараты имеют широкую область применения в основе которой лежит комплексное воздействие не на одну, а сразу на несколько систем организма человека. С точки зрения изучения специфической фармакологической активности и выбора методов исследования препаратов данной группы, можно выделить следующие основные эффекты ноотропов:

1. улучшение процессов обучения и памяти у здоровых животных в норме при использовании лабиринтов, условно рефлекторных методов;
2. коррекция нарушений обучения и памяти, вызванных: введением химических веществ, гипоксией, электрошоком, ишемией и т.д.;
3. специфические эффекты заметные на электроэнцефалограмме;
4. коррекция нарушений, возникающих при старении;
5. коррекция нарушений у молодых животных, рожденных от самок, которые подвергались вредным воздействиям (введение химических веществ, гипоксия и др.);
6. улучшение гемореологических показателей, нормализация мозгового кровообращения, и другие эффекты [85].

В рамках исследования были выбраны методики «Водного лабиринта Морриса» и выработки условного рефлекса с положительным подкреплением. В обоих экспериментах изучали влияние на обучение и запоминание в норме и в условиях экспериментального нарушения когнитивных функций, вызванных введением атропина.

Для изучения специфической фармакологической активности разработанного сбора, из него получали жидкий экстракт (сырье: 70% спирт 1:1) по методике ускоренной дробной мацерации методом противотока. Исследования были выполнены на белых беспородных крысах-самцах (раздел 2.2.12).

В обоих экспериментах деление на группы и дозировка вводимых препаратов были одинаковыми. Так, для каждого эксперимента животных делили на 5 групп

по 12 крыс в каждой. I и II опытной группе вводили внутривентрикулярно сбор ноотропного действия в дозе 1 мл/кг, оказывающей наиболее выраженное ноотропное действие, согласно проведенным предварительным испытаниям. В качестве препарата сравнения использовали ноотропный препарат пирацетам, так как он достаточно изучен, имеет широкую доказательную базу эффективности и наиболее часто используется в аналогичных методиках для изучения ноотропной активности. Пирацетам получали животные III опытной группы в дозе 400 мг/кг. Крысы интактной и контрольной групп получали воду очищенную по аналогичной схеме. Препараты вводились ежедневно 1 раз в день в течение 6 недель до начала эксперимента и за 1 час до начала проведения испытаний. Влияние ноотропного сбора на когнитивные функции белых крыс изучали в том числе в условиях моделирования амнезии, вызванной внутрибрюшинным введением атропина в дозе 10 мг/кг (т.е. на фоне приема препарата, снижающего когнитивные функции), который вводили однократно в первый день испытаний после проведения обучения опытным группам II, III и контролю.

5.1. Изучение ноотропной активности. Лабиринт Морриса

«Водный лабиринт Морриса», предназначенный для исследования пространственной памяти животных, представлял собой цилиндрический бак, диаметром 150 см, с высотой стенок 67 см, в который помещали неподвижную платформу. Близкой визуальной меткой выступала черная геометрическая фигура на внутренней стенке бака, расположенная на 10 см левее от неподвижной платформы. Бак наполняли непрозрачной водой (путем добавления красителя), температурой $23 \pm 1^\circ\text{C}$ на уровень 30 см, что на 2 см выше помещаемой платформы. За день перед тестированием каждую крысу помещали в пустой бак на 10 мин для адаптации к условиям эксперимента. Каждый день эксперимента крысе предоставляли попытку по 90 с на нахождение скрытой под водой платформы. Для этого каждое животное сажали в одно и то же место (противоположное от

платформы). В первый день животных обучали и после обучения вводили атропин в дозе 10 мг/кг. Испытания повторяли через 1, 3, 10, 14 дней после обучения.

Влияние ноотропного сбора на когнитивные функции белых крыс изучали в том числе в условиях моделирования амнезии, вызванной однократным внутривбрюшинным введением атропина в дозе 10 мг/кг (т.е. на фоне приема препарата, снижающего когнитивные функции).

Были получены статистически значимые различия между контрольной группой и группой III (получающей пирацетам), что доказывает эффективность выбранной методики для изучения ноотропной активности на фоне приема атропина, т.е. на фоне снижения когнитивных функций. Наиболее показательными были результаты 1 и 3 дня. На 10 и 14 сутки значения времени нахождения платформы снижались во всех группах, разница становилось незначительной. Результаты теста со скрытой платформой водного лабиринта Морриса представлены в таблице 5.1. и на диаграмме (Рисунок 5.1).

Таблица 5.1 - Результаты исследования пространственной памяти животных в водном лабиринте Морриса

Группа	Время нахождения платформы			
	1 день, с	3 день, с	10 день, с	14 день, с
I ноотропный сбор	34 ± 5,7#	20 ± 5,9#	29 ± 10,2	11 ± 5,2##
II ноотропный сбор + атропин	40 ± 14,5*	26 ± 6,3	15 ± 5,2**	20 ± 4,7
III пирацетам + атропин	36 ± 8,4*	30 ± 8,2	27 ± 9,4	13 ± 5,6*
Интакт	58 ± 15,4	39 ± 12,7	30 ± 8,5	29 ± 9,8
Контроль + атропин	65 ± 14,1	33 ± 10,5	33 ± 5,4	24 ± 9,4

Примечание: # — $p \leq 0,05$ данные достоверны по отношению к показателю интактной группы животных; ## — $p \leq 0,01$ данные достоверны по отношению к показателю интактной группы животных; * — $p \leq 0,05$ данные достоверны по отношению к показателю контрольной группы животных; ** — $p \leq 0,01$ данные достоверны по отношению к показателю контрольной группы животных (в соответствии с непараметрическим U-критерием Манна-Уитни).

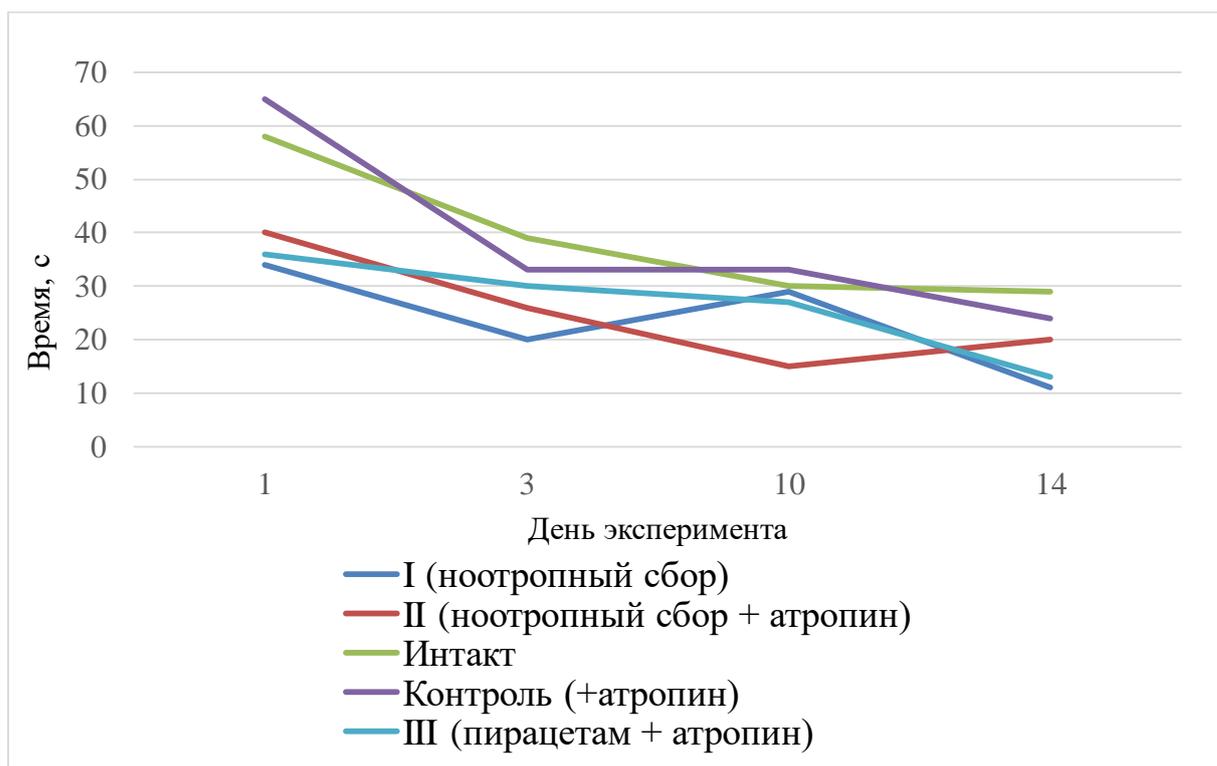


Рисунок 5.1 - Результаты исследования пространственной памяти животных в водном лабиринте Морриса

В первый день после обучения в тесте со скрытой платформой время нахождения платформы у I опытной группы составило $34\text{с} \pm 5,7\text{с}$, что на 40% меньше чем у интактной группы $58\text{с} \pm 15,4\text{с}$. Также, наблюдается значительная разница (на 50%) времени нахождения платформы у II опытной группы по сравнению с контрольной группой, $32\text{с} \pm 24\text{с}$ и $65\text{с} \pm 14,1\text{с}$, соответственно. Это является сопоставимым с результатами III опытной группы, получавшей пирацетам, где время составило $36\text{с} \pm 8,4\text{с}$, что меньше в сравнении с контролем всего на 45%. На 3 сутки наблюдалось уменьшение времени нахождения платформы во всех группах, а также снижение амнезирующего действия атропина. Таким образом, разница I опытной и интактной группы составила 50%, $20\text{с} \pm 5,9\text{с}$ и $39\text{с} \pm 12,7\text{с}$, соответственно. А снижение времени внутри групп на третий день в сравнение с первым днем испытаний на 45% и 33% соответственно. На 3 день в II и III опытных группах также наблюдалось уменьшение времени нахождения платформы по сравнению с показаниями этих групп в первый день. При этом результат на 3 день испытаний во II группе меньше на 13%, чем в III группе,

получавшей пирарцетам. На 10 и 14 сутки результаты снижались во всех 5 группах, а разница между группами была значительной для II на 10 день, а для I на 14 день в сравнении с интактной и контрольной группами соответственно.

Таким образом, была доказана ноотропная активность сбора, сопоставимая с действием пирарцетама, как в норме, так и в условиях моделирования амнезии, вызванной однократным введением атропина.

5.2. Изучение ноотропной активности. Выработка условного рефлекса с положительным подкреплением

Для определения специфической ноотропной активности изучали влияние на обучаемость в методике условного рефлекса с положительным подкреплением (УРСПП). Условный питьевой рефлекс вырабатывался у животных с питьевой депривацией в течение 48 ч в однокоррежечной камере Т-образного типа.

Для снижения ориентировочной реакции за день до начала испытаний каждое животное помещали на 10 минут в Т-образный лабиринт. Крыса выходя из стартового отсека, делала поворот в левую или правую часть лабиринта. Это направление фиксировали для каждой крысы, чтобы исключить влияние предпочтительного поворота на процесс обучения. При проведении испытаний поилку для этого животного ставили в противоположную часть лабиринта [69].

В дни испытаний крыс помещали в стартовую камеру лабиринта, в одном из отсеков которого ставили поилку с водой. Спустя 30с открывали дверцу стартового отсека с характерным щелчком (условный раздражитель). Испытания проводили пять раз подряд по 3 минуты в течение четырех дней. Если животное отказывалось искать поилку в течение первого дня испытаний, то его исключали. В каждый день эксперимента фиксировали 4 показателя: латентный период (время от момента посадки до выхода из стартового отсека); время реакции (время достижения поилки); число выполненных реакций (сколько раз из предложенных попыток животное добралось до поилки); число ошибок (число заходов в противоположный требуемому отсек). При достижении поилки пить крысам позволяли не более 3

секунд. Для каждой группы рассчитывали среднее время латентного периода и время выработки рефлекса. Считали, что рефлекс выработан, если было семь выполненных реакций из десяти предложенных. Если животное не находило поилку в течение 5 предложенных пробежек, его помещали в целевую камеру, чтобы крыса могла попить воды [69, 85, 117].

В условиях питьевой депривации крысы имели свободный доступ к пище. За время эксперимента падение массы животных не превысило 20 % от исходного уровня [85].

Результаты влияния на обучаемость в методике условного рефлекса с положительным подкреплением (УРсПП) представлены в таблице 5.2. При сравнении интактной и контрольной групп можно заметить, что разница между группами была незначительной в каждый день испытаний по показателю время выработки рефлекса. Зато наблюдалась разница в латентном периоде. Так в первый день испытаний у интактной группы период был короче, чем у контрольной на 20%, во второй день разница составила 17%, в третий и в четвертый день значения сравнялись. Из этого можно сделать вывод, что введение атропина группе контроля не влияло на время выработки, но значительно сокращало время выхода из стартового отсека. Таким образом, можно обосновать использование атропина в эксперименте в качестве вещества снижающего когнитивные функции.

Если сравнивать группу получавших пирарцетам с группой контроля, то разница существенна, первые два дня испытаний в латентном периоде, и три дня по времени выработки рефлекса. При этом латентный период в эти дни у группы получавшей пирарцетам был в 2 раза меньше, чем у группы контроля, а время выработки меньше на треть. Отсюда можно сделать вывод о ноотропных свойствах пирарцетама и обоснованности выбора его в качестве препарата сравнения.

В первые 2 дня испытаний при сравнении латентного периода I опытной группы, получающей ноотропный сбор, значения были меньше на 36%, чем у интактной группы, а в третий день на 42%. В первый день испытаний интактной группе понадобилось на 33% больше времени для выработки рефлекса, чем крысам I опытной группы, получавшей сбор. Во второй день на 23% больше времени, в

третий на 12%, а в четвертый на 22%. Таким образом, можно сделать вывод о способности сбора влиять на обучаемость и выработку рефлекса в норме (не в условиях патологии или воздействия неблагоприятных факторов), и соответственно, о ноотропной активности разработанного сбора.

При сравнении групп в условиях снижения когнитивных функций моделированием амнезии, вызванной однократным внутрибрюшинным введением атропина в дозе 10 мг/кг группа, получавшая ноотропный сбор (II опытная группа), незначительно уступала группе, получавшей пирацетам, но в сравнении с контролем сбор показал хорошие результаты. Латентный период в 1 день испытаний у II группы был на 42% меньше, чем у группы контроля, а время выработки рефлекса меньше на 17%. Последующие дни разница снижалась (таблица 5.2.).

Таблица 5.2 - Результаты изучения ноотропной активности методом УРсПП

Латентный период				
	1 день, с	2 день, с	3 день, с	4 день, с
I Ноотропный сбор	61 ± 17,8##	50 ± 17,7##	37 ± 9,7#	44 ± 15,7
II Ноотропный сбор + атропин	68 ± 7,2**	63 ± 15,3*	62 ± 22,6	36 ± 10,6**
III Пирацетам + атропин	61 ± 18,1**	46 ± 16,8**	46 ± 11,9	47 ± 13,5
Интактная группа	95 ± 17,7	78 ± 14,3	63 ± 17,5	56 ± 14,4
Контроль (+ атропин)	118 ± 14,8	93 ± 21,6	64 ± 31,7	57 ± 19,9
Время выработки рефлекса				
	1 день, с	2 день, с	3 день, с	4 день, с
I Ноотропный сбор	84 ± 19,7#	79 ± 12,3#	72 ± 12,3	62 ± 22,5
II Ноотропный сбор + атропин	108 ± 10,0*	93 ± 11,1	82 ± 13,9	54 ± 17,4
III Пирацетам + атропин	98 ± 17,9**	79 ± 13,0*	64 ± 16,6*	59 ± 25,4
Интактная группа	124 ± 27,4	102 ± 19,7	81 ± 26,1	79 ± 20,1
Контроль + атропин	129 ± 15,2	107 ± 25,7	99 ± 21,9	79 ± 16,5

Примечание: # — $p \leq 0,05$ данные достоверны по отношению к показателю интактной группы животных; ## — $p \leq 0,01$ данные достоверны по отношению к показателю интактной группы животных; * — $p \leq 0,05$ данные достоверны по отношению к показателю контрольной группы животных; ** — $p \leq 0,01$ данные достоверны по отношению к показателю контрольной группы животных (в соответствии с непараметрическим U-критерием Манна-Уитни).

Значения показателя «число ошибок» (число заходов в противоположный отсеку с поилкой) в первый и второй день испытаний в среднем для всех испытуемых групп был больше 3, в то время как в группах контроля и интакта не превышал 2. На третий и четвертый день ситуация менялась, и число ошибок в испытуемых группах была практически равна 0, а в контрольной и интактной группах в среднем составила 2. Из этого можно сделать предположение, что в первые дни у испытуемых групп был больше развит исследовательский инстинкт, они меньше испытывали стресса и активно изучали лабиринт. А в последние дни наоборот интерес был снижен, что может говорить об обучаемости крыс и запоминанию нужного маршрута.

Таким образом, экспериментально проверена выбранная методика по выработке условного рефлекса с положительным подкреплением на примере ноотропного препарата пирацетама, который значительно уменьшает латентный период и время выработки рефлекса у лабораторных животных. А также, доказано ноотропное действие разработанного сбора в эксперименте по сравнению с контрольными животными как в норме, так в условиях моделирования амнезии, вызванной однократным внутрибрюшинным введением атропина в дозе 10 мг/кг. Результаты в группах получавших сбор были, в целом, сопоставимы по действию с пирацетамом, хотя и уступали по средним значениям в группе. Но в силу накопительного действия лекарственных растений и возможности применять длительное время, в сочетании с низкой токсичностью и высокой безопасностью, в сравнении с синтетическими лекарственными средствами, его можно рекомендовать в качестве профилактического препарата. Доказанная активность позволяет расширить широту фармакологического применения ноотропного сбора в качестве нейропротекторного препарата.

5.3. Изучение хронической токсичности ноотропного сбора

В ходе эксперимента было проведено хроническое токсикологическое исследование продолжительностью 6 месяцев. Ежедневно животным вводили

суточную терапевтическую дозу ноотропного сбора внутривентрикулярно, как описано выше. Содержали и кормили всех лабораторных животных одинаково. Каждые 10 дней крыс взвешивали и наблюдали за их поведением.

В результате установлено, что длительное применение ноотропного сбора не приводит к физиологическим изменениям крыс. На протяжении всего эксперимента не было зарегистрировано случаев гибели животных. Животные всех групп были активны, отклонений в поведении и нарушений в координации движений не наблюдалось. Состояние кожи и волосяного покрова не изменилось, покров был гладкий, не потерял своего блеска. Наблюдалась положительная динамика массы тела крыс, расстройств пищеварения не было. Мочеиспускание у всех животных было регулярным, произвольным, безболезненным, в естественной позе. Внешний вид и запах мочи и каловых масс естественный.

В конце эксперимента все животные опытных и контрольных групп были подвергнуты эвтаназии и патологоанатомическому вскрытию. При макроскопическом исследовании органов, тканей и места введения патологических изменений обнаружено не было. Таким образом, можно сделать вывод о безопасности применения нового ноотропного сбора в течение длительного времени (6 месяцев).

Выводы к 5 главе

1. Доклиническими исследованиями на крысах с использованием методик «Водного лабиринта Морриса» и выработки условного рефлекса с положительным подкреплением (УРсПП) была доказана специфическая ноотропная активность сбора. Действие сбора в целом сопоставимо с действием пирацетама, хотя и уступает таковому. Но в силу накопительного действия препаратов лекарственных растений и возможности их применения в течение длительного времени, в сочетании с низкой токсичностью и высокой безопасностью, в сравнении с синтетическими лекарственными средствами, можно рекомендовать сбор в качестве профилактического препарата. Проведенные

испытания подтвердили теоретически обоснованное процентное содержание компонентов в сборе.

2. Проведено изучение влияние ноотропного сбора на когнитивные функции белых крыс в условиях моделирования амнезии, вызванной введением атропина (препарата, снижающего когнитивные функции). Доказанная активность позволяет расширить спектр фармакологического применения ноотропного сбора в качестве нейропротекторного препарата.

3. В результате проведенного хронического токсикологического исследования сбора продолжительностью 6 месяцев, была доказана его безопасность применения в течение длительного времени в терапевтических дозах.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. В ходе информационно-аналитического исследования было установлено, что ассортимент ноотропных препаратов широк, но имеет место проблема безопасности синтетических препаратов. В связи с чем очевидна перспективность использования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов на его основе в качестве ноотропных средств. В результате анализа данных литературы дано теоретическое обоснование состава и процентного содержания компонентов ноотропного сбора: 50% листьев гинкго двулопастного, 20% листьев бадана толстолистного, 20% травы таволги вязолистной, 5% корней солодки, 5% плодов боярышника.

2. Проведено изучение химического состава сбора и установлено с помощью качественных реакций и хроматографических методов наличие в нем флавоноидов, фенологликозидов, дубильных веществ и других фенольных соединений, аминокислот, сапонинов и полисахаридов; изучен минеральный состав.

3. Разработана и проведена валидация методики спектрофотометрического определения количественного содержания флавоноидов в сборе (сумма флавоноидов в пересчете на рутин $2,14 \pm 0,10\%$).

Проведена оценка количественного содержания дубильных веществ в пересчете на танин ($7,23 \pm 0,26\%$), сумма фенологликозидов в пересчете на арбутин $15,77 \pm 0,77\%$, аминокислот (содержание свободных аминокислот составило 1,165%, связанных 3,216%), полисахаридов ($3,30 \pm 0,15\%$), установлено содержание в сборе 24 минеральных элементов. Изучена антиоксидантная активность сбора (IC₅₀ $0,037 \pm 0,002$ мг/мл в пересчете на сухой остаток или $0,203 \pm 0,009$ мг/мл в пересчете на сумму флавоноидов).

4. Проведено изучение внешних признаков сбора. Установлены анатомо-диагностические признаки сбора и отдельных компонентов. Все обнаруженные в ходе анализа диагностические признаки не расходятся с данными литературы.

Анализ мелкой фракции сбора подтвердил возможность диагностировать все компоненты, входящие в его состав.

5. В результате исследования разработаны характеристики подлинности сбора (внешние и микроскопические признаки, качественные реакции и тонкослойная хроматография). Определены некоторые показатели качества (влажность, зола общая, зола нерастворимая в хлористоводородной кислоте), а также количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой и содержание экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70%; установлены нормы их содержания в сборе. Полученные данные положены в основу проекта фармакопейной статьи на ноотропный сбор.

6. Доказана специфическая ноотропная активность сбора в ходе доклинических исследований на крысах с использованием методик «Водного лабиринта Морриса» и методики выработки условного рефлекса с положительным подкреплением. Действие сбора в целом сопоставимо с действием пирацетама. Проведено хроническое токсикологическое исследование сбора продолжительностью 6 месяцев, и доказана его безопасность при применении в течение длительного времени.

Практические рекомендации

Результаты экспериментальных исследований по изучению характеристик подлинности, химического состава основных групп биологически активных соединений, показателей качества, по разработке методики количественного определения суммы флавоноидов сбора и его компонентов целесообразно использовать в контрольно-аналитических лабораториях для контроля качества сборов и многокомпонентных композиций. Результаты фармакогностического, фармакологического изучения и стандартизации сбора ноотропного действия включены в проект нормативной документации на разработанный сбор и представляют интерес для создания ФС и инструкции по медицинскому применению.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Проведенные исследования в рамках данной диссертации могут служить основой для дальнейшей разработки оптимальной лекарственной формы из сбора ноотропного действия. А также представляет интерес последующие доклинические и клинические исследования фармакологической активности сбора, с целью расширения номенклатуры отечественных ноотропных средств.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- БАД** – биологически активная добавка;
- БАС** – биологически активные соединения;
- БП** - боярышника плоды;
- БТЛ** - бадана толстолистного листья;
- ВОЗ** - Всемирной организацией здравоохранения;
- ВЭЖХ** – высокоэффективная жидкостная хроматография;
- ГДЛ** - гинкго двулопастного листья;
- ГФ РФ** – Государственная фармакопея Российской Федерации;
- ДФПГ** - реактив 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил;
- ЖАК** - раствор железа (III) аммония сульфат (железоаммонийные квасцы);
- ЖКТ** – желудочно-кишечный тракт;
- ИСП-ОЭС** - оптико-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой;
- ЛП** – лекарственный препарат;
- ЛРС** – лекарственное растительное сырьё;
- ЛС** – лекарственное средство;
- НД** – нормативная документация;
- НЛС** – ноотропное лекарственное средство;
- ОФС** – общая фармакопейная статья;
- ПФ** – подвижная фаза;
- СК** - солодки корни;
- СО** – стандартный образец;
- СФМ** – спектрофотометрия;
- ТВТ** - таволги вязолистной трава;
- ТСХ** – тонкослойная хроматография;
- УРПИ** – методика выработки условного рефлекса пассивного избегания;
- УРСПП** - методика выработки условного рефлекса с положительным подкреплением;
- УФ** – ультрафиолетовый;

ФС – фармакопейная статья;

ЦНС – центральная нервная система;

IC50 (half maximal inhibitory concentration) - это концентрация, при которой с тестируемым образцом связывается 50% радикаловДФП, рассчитывается для оценки антиоксидантной активности;

Rf - расстояние от линии старта до середины пятна, отнесенное к расстоянию от линии старта до линии фронта растворителя;

RSD - стандартное отклонение результата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеева Е. Ю. Компонентный состав фракции *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. С высокой антиоксидантной активностью / Е. Ю. Авдеева, Е. А. Краснов, И. В. Шилова // Химия растительного сырья. – 2008. – №3. – С. 115-118.
2. Анатомо-морфологическое исследование листьев гинкго двулопастного / Буланкин Д. Г., Жирнова А. И., Куркин В. А. [и др.]. // Медицинский альманах. – 2011. – №6. – С. 249-252.
3. Антиамнестическое действие комплексных растительных средств из арсенала традиционной медицины / Я.Г. Разуваева, С. В. Цыремпилов, Ж.Б. Дашинамжилов, А.А. Гулевич.// Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2006. - №3 (49). - С.130-133.
4. Антиоксидантные свойства экстрактов растений семейства Lamiaceae, произрастающих в республике Коми / Володин В. В., Безматерных К. В., Смирнова Г. В. [и др.]. // Известия Коми научного центра УрО РАН. – 2014. – №1 (17). – С. 27-31.
5. Банзаракшеев В. Г. Фитотерапия и фитопрофилактика нарушений липидного обмена (обзор литературы) / В. Г. Банзаракшеев // Вестник БГУ. Медицина и фармация. – 2012. – №12. – С. 77-80.
6. Барнаулов О. Д. Противодиабетические свойства настоя цветков лабазника вязолистного / О. Д. Барнаулов, М. Л. Поспелова // Психофармакология и биологическая наркология. – 2005. – Т. 5 – №4. – С. 1113-1120.
7. Барнаулов О. Д. Сравнительная оценка антидислипидемического действия настоев поликомпонентного сбора и цветков лабазника вязолистного у больных атеросклерозом артерий мозга / О. Д. Барнаулов, М. Л. Поспелова, Е. В. Туманова // Психофармакология и биологическая наркология. – 2006. – Т. 6 – №1-2. – С. 1239-1244.
8. Башилов А. В. Применение *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. В рамках учения об адаптогенах / А. В. Башилов // Вестник ВГМУ. – 2012. – Т. 11 – №4. – С. 86-90.
9. Бубенчиков Р. А. Аминокислотный и минеральный состав травы фиалки

удивительной / Р. А. Бубенчиков // Вестник ВГУ. Серия Химия. Биология. Фармация. – 2006. – № 1. – С. 186-188.

10. Бубенчикова В. Н. Изучение азотсодержащих соединений горюхи ястребинковой (*Picris hieracioides* L.) / В. Н. Бубенчикова, И. В. Степнова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 11. – С. 1133-1135.

11. Бурчинский С. Г. Астенический синдром и цереброваскулярная патология: возможности патогенетической фармакотерапии / С. Г. Бурчинский // Международный неврологический журнал. – 2014. – №7 (69). – С. 69-74.

12. Бурчинский С. Г. Возможности препаратов гинкго билоба в стратегии фармакотерапии сосудистой деменции / С. Г. Бурчинский // Международный неврологический журнал. – 2012. – №1 (47). – С. 6-10.

13. Бурчинский С. Г. Возможности препаратов гинкго билоба в стратегии фармакотерапии сосудистой деменции / С. Г. Бурчинский // Международный неврологический журнал. – 2015. – №6 (76). – С. 131-136.

14. Бурчинский С. Г. Возможности препаратов гинкго при психосоматической патологии / С. Г. Бурчинский // Международный неврологический журнал. – 2011. – №5. – С. 9-14.

15. Бурчинский С. Г. Новые возможности ноотропной и вазотропной фармакотерапии в стратегии лечения цереброваскулярной патологии / С. Г. Бурчинский // Международный неврологический журнал. – 2011. – №2. – С. 14-17.

16. Бурчинский С. Г. Препараты гинкго билоба: по пути открытий в клинической нейрофармакологии / С. Г. Бурчинский // Международный неврологический журнал. – 2017. – №4 (90). – С. 47-51.

17. Бурчинский С. Г. Препараты гинкго в современной стратегии нейропротекции: возможности и перспективы / С. Г. Бурчинский // Международный неврологический журнал. – 2011. – №1. – 7-14. Бурчинский С. Г. Препараты гинкго билоба: по пути открытий в клинической нейрофармакологии / С. Г. Бурчинский // Международный неврологический журнал. – 2016. – №4 (82). – С. 83-97.

18. Бурчинский С. Г. Проблема безопасности ноотропной фармакотерапии в неврологической практике / С. Г. Бурчинский, О. Ю. Гончар, К. В. Райченко // Международный неврологический журнал. – 2017. – №7 (93). – С. 56-60.
19. Бурчинский С. Г. Фармакопрофилактика когнитивных расстройств: возможности препаратов гинкго / С. Г. Бурчинский // Международный неврологический журнал. – 2014. – №5 (67). – С. 117-122.
20. Валеева А. Р. Сравнительная характеристика влияния технологии экстракции на антиоксидантные свойства для плодов и цветков боярышника (*Crataegus*) / А. Р. Валеева, Н. В. Макарова, Д. Ф. Валиулина // Химия растительного сырья. – 2020. – №1. – С. 157-166.
21. Васфилова Е. С. Взаимосвязь морфологических показателей и содержания флавонолов в различных органах растений лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. S. L.) / Е. С. Васфилова, О. Е. Сушенцов // Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле». – 2016. – №1. – С. 43-52.
22. Вахнина Н. В. Применение витаминно-минеральных комплексов в составе ноотропной терапии при астенических состояниях и неврологических расстройствах / Н. В. Вахнина, Е. Ю. Калимеева // Медицинский совет. – 2015. – №11. – С. 12-16.
23. Всемирная организация здравоохранения: сайт. – 2020. – URL <https://www.who.int/ru/> (дата обращения: 15.04.2020).
24. Ганцгорн Е. В. Патофизиологические основы современной фармакотерапии острой ишемии головного мозга. Место ноотропов и антиоксидантов в нейропротекции / Е. В. Ганцгорн, Д. П. Хлопонин, Ю. С. Макляков // Медицинский вестник Юга России. – 2013. – №2. – С. 4-12.
25. Горбатюк Е. А. Особенности элементного состава *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim (Rosaceae) на территории Ново-Урского хвостохранилища в Кемеровской области / Е. А. Горбатюк, Н. В. Барановская, В. А. Жданов // Известия ТПУ. – 2019. – Т. 330 – №6. – С. 116-125
26. Горбачева А. В. Стрессиндуцирующее действие циклофосфана и его коррекция настойкой лабазника вязолистного / А. В. Горбачева, С. Г. Аксиненко,

- В. Г. Нашинский // Сибирский онкологический журнал. – 2003. – №1. – С. 26-29.
27. Гудкова А.А. Фармакогностическое изучение представителей рода горец (*Persicaria mill.*) Как перспективного источника получения лекарственных препаратов: диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук: 14.04.02 / Гудкова Алевтина Алексеевна. – Москва, 2020. – 450 с.
28. Гудкова Н. Ю. О перспективах интродукции представителей рода лабазник (*Filipendula Mill.*) в качестве источников лекарственного сырья / Н. Ю. Гудкова // Сельско-хозяйственная биология. – 2012. – №2. – С. 73-79.
29. Гусейнова Ф. Д. Психотропные препараты, восстанавливающие процессы интеграции и адаптации организма / Ф. Д. Гусейнова, Г. Н. Касимова // Биомедицина (Баку). – 2015. – №1. – С. 9-13.
30. Давлатова, М.С. Антибактериальные, противовирусные свойства солодки / М. С. Давлатова, И. Д. Кароматов // Эл. Науч. Жур. «Биология и интегративная медицина». – 2018. - №8. - С.18-28.
31. Дайронас Ж. В. Микроскопия диагностических элементов листьев гинкго двулопастного и травы лабазника вязолистного в таблетках «Гинкготропил» / Ж. В. Дайронас, А. В. Корочинский, И. Н. Зилфикаров // Фармация и фармакология. – 2016. – Т.4. – №1(14). – С. 36-45.
32. Данилов М. С. Биологическая активность бадана толстолистного / М. С. Данилов // Вестник АГАУ. – 2012. – Т. 89 – №3. – С. 49-52.
33. Доровских Е. А. Изучение аминокислотного состава ноотропного сбора / Е. А. Доровских, В. А. Ермакова, Т. Ю. Ковалева // Фармация. – 2020. – № 69 (3). – С. 18-22.
34. Доровских Е. А. Минеральный состав сбора ноотропного действия. От растения до лекарственного препарата / Е. А. Доровских, В. А. Ермакова, Т. Ю. Ковалева // Сборник научных трудов международной научной конференции. – Москва: ФГБНУ ВИЛАР, 2020. – С. 222-225.
35. Евтушенко И. С. Ноотропы и нейропротекторы в современной клинической нейрофармакологии / И. С. Евтушенко // Международный неврологический журнал. – 2013. – №3 (57). – С. 20-27.

36. Егоров, М. В. Совершенствование методов стандартизации корней солодки / М.В. Егоров, В.А. Куркин // Известия Самарского научного центра РАН. - 2011. - №1-8. – С.1992-1995.
37. Ермакова, В.А. Фармакогностическое изучение и стандартизация сборов, брикетов, растительных порошков. диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук: 15.00.02 / Ермакова Валентина Алксеевна. – Москва, 1999. – с.375.
38. Зыкова И. Д. К вопросу перспективности эфирного масла *Filipendula ulmaria* (L) Maxim как источника метилсалицилата / И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2012. – №2. – С. 101-102.
39. Зыкова И. Д. Компонентный состав эфирного масла из соцветий *Filipendula ulmaria* (L) Maxim в фазах цветения и плодоношения / И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов // Химия растительного сырья. – 2011. – №1. – С. 133-136.
40. Зыкова И. Д. Компонентный состав эфирного масла стеблей, листьев и соцветий *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim / И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов // Химия растительного сырья. – 2011. – №4. – С. 99-102.
41. Зыкова И. Д. Минеральный состав надземных органов *Filipendula ulmaria* (L) Maxim / И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов // Сибирский медицинский журнал. – 2012. - №7. – С. 103-105.
42. Зыкова И. Д. Сравнительный анализ компонентного состава эфирного масла цветков лабазника вязолистного Сибирского региона и Республики Дагестан / И. Д. Зыкова, Л. В. Наймушина, Р. З. Гасанов // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2015. – №2. – С. 115-117.
43. Зыкова И. Д. Эфирное масло *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim: степень изученности и современное состояние исследований (обзор) / И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов // Химия растительного сырья. – 2014. – №3. – С. 53-60.
44. Изучение антиаритмической активности листьев *Crataegus sanguinea* (Rosaceae) / Трофимова С. В., Хасанова С. Р., Кудашкина Н. В. [и др.]. // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – Т.6. – №2. – С. 299-302.
45. Изучение капилляроукрепляющего действия геля с экстрактом лабазника

- вязолистного / И. В. Жилина, Э. Ф. Степанова, Ю. А. Огурцов, Г. А. Голова // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. – 2010. – Т. 12-2 – №22 (93). – С. 29-31.
46. Изучение флавоноидного состава и антиоксидантной активности ноотропного сбора / Е. А. Доровских, Д. А. Тращенко, Т. Ю. Ковалева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2020. – Т.23. – №4. – С.33-37.
47. Илларионова Т. С. Место Фенотропила среди ноотропных препаратов / Т. С. Илларионова // Трудный пациент. – 2006. – Т. 4. – №5. – С. 23-26.
48. Исмаилов И. З. Изучение антиоксидантных свойств сухого экстракта *Radus graupanae Maxim* / И. З. Исмаилов, Т. С. Сабирова // Достижения науки и образования. – 2017. – №1(14). – С. 62-66.
49. Использование лекарственного сырья солодки (*Glycyrrhiza L., Fabaceae*) в тибетской традиционной медицине / Н. А. Дурнова, М. А. Березуцкий, А. А. Оглезнева, Л. Е. Сигарева // Бюл. Бот. сада СГУ. - 2017. – Т.15. - №1. - С.44-49.
50. Исследование содержания доминирующих групп БАВ и биоэлементов в некоторых растениях семейства *Rosaceae* / Краснов Е. А., Савельева Е. Е., Рыжакова Н. К. [и др.]. // Химия растительного сырья. – 2017. – №4. – С. 145–151.
51. Исследование эфирного масла из надземной части *Filipendula ulmaria (L.) Maxim* / М. Ю. Круглова, М. А. Ханина, Д. Л. Макарова, Д. В. Домрачев // *Journal of Siberian Medical Sciences*. – 2011. – №5. – С. 13.
52. Кароматов, И.Д. Нейропротективные свойства солодки / И.Д. Кароматов, Г.С. Юсупова // Биология и интегративная медицина. - 2018. - №8. - С.79-90.
53. Кароматов, И. Д. Солодка, лакричник, лакрица – применение в медицине (обзор литературы) / И.Д. Кароматов // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. - 2013. - №11-2. – С.230-235.
54. Кароматов И. Д. Химический состав и лечебные свойства боярышника / И. Д. Кароматов, Н. А. Жалилов // Биология и интегративная медицина. – 2019. – №1 (29). – С. 109-141.
55. Колесников М. П. Формы кремния в растениях / М. П. Колесников // Успехи

биологической химии. – 2001. – Т. 41.– С. 301-332.

56. Корни солодки: анализ фармакопейных требований / Ермакова В. А., Самылина И. А., Ковалева Т. Ю. [и др.]. // Фармация. – 2019. – № 68 (6). – С.16-19.

57. Косарев В. В. Фармакотерапия дисциркуляторной энцефалопатии: в фокусе - ноотропы / В. В. Косарев, С. А. Бабанов // Медицинский совет. – 2012. – №3. – С. 54-59.

58. Краснов Е. А. Химический состав растений рода *Filipendula* (обзор) / Е. А. Краснов, Е. Ю. Авдеева // Химия растительного сырья. – 2012. – №4. – С. 5-12.

59. Кузнецова С. М. Применение экстракта гинкго билоба в системе реабилитации больных, перенесших инсульт / С. М. Кузнецова, В. В. Кузнецов, Д. В. Шульженко // Международный неврологический журнал. – 2016. – №5 (83). – С. 111-114.

60. Кузнецова С. М. Экстракт гинкго билоба в стратегии лечения хронических сосудистых заболеваний головного мозга / С. М. Кузнецова, Д. В. Шульженко // Международный неврологический журнал. – 2015. – №2 (72). – С. 109-115.

61. Литвиненко В. И. Солодка: систематика, химия, технология, стандартизация, фармакология, клиника / В. И. Литвиненко, В. П. Георгиевский, А. С. Аммосов. – Ярославль: Аверс Плюс, 2014. – 466 с.

62. Масс-спектрометрия супрамолекулярных комплексов глицирризиновой кислоты и стрептомицина / Ветрова Е.В., Лекарь А.В., Максименко Е.В. [и др.] // Химия растительного сырья. - 2016. - №3. - С.27-34.

63. Маюрникова Л.А Дефицит селена и пути его коррекции в организме человека / Л. А. Маюрникова, Е. В. Шигина, Г. А. Гореликова // Пиво и напитки. – 2005. – №1. – С. 34-35.

64. Мовсумов И. С. Химические компоненты цветков *Filipendula ulmaria* и *F. vulgaris* из флоры Азербайджана / И. С. Мовсумов, Э. А. Гараев, Д. Ю. Юсифова // Химия растительного сырья. – 2011. – №3. – С. 159-162.

65. Моисеев Д. В. Антимикробная активность растительного сырья, содержащего фенольные соединения, в зависимости от типа упаковки и температурных режимов хранения / Д. В. Моисеев // Вестник ВГМУ. – 2014. – Т.

13 – №5 – С. 130-136.

66. Мухаметова С. В. Биохимическая характеристика плодов некоторых видов боярышника в Республике Марий Эл / С. В. Мухаметова // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т. 16. – №15. – С. 103-107.

67. Нагаслаева Л.А. Разработка технологии производства экстракта толокнянки сухого и создание лекарственной формы на его основе. Методы их стандартизации: диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук: 15.00.01, 15.00.02 / Нагаслаева Лариса Андреевна. - М., 1994. -170 с.

68. Недилько О. В. Изучение аминокислотного состава надземной и подземной частей солодки голой / О. В. Недилько, А. В. Яницкая // Химия растительного сырья. – 2020. – №1. С. 251-256.

69. Николаева, И.Г. Разработка средства, обладающего ноотропной активностью / И.Г. Николаева, Л.Д. Дымшеева // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2010. - №2 (72). - С.201-204.

70. Ноотропное средство, обладающее антигипоксической активностью: пат. РФ №2314115: МПК А61К 36/73, А61Р 25/28 / И.В.Шилова, Н.И. Суслов, О.П. Слепушкина, Н.В. Кувачева, Н.В. Провалова; патентообладатели ГОУ ВПО СибГМУ, И.В.Шилова, Н.И. Суслов, О.П. Слепушкина, Н.В. Кувачева, Н.В. Провалова. - № 2006114550/15; заявл. 24.04.2006; опубл. 10.01.2008, Бюл. №1.

71. О необходимости совершенствования контроля безопасности и качества экстрактов из листьев гинкго билоба / В. В. Геннадьевич, Г. А. Калабин, М. И. Букаса, Д. Д. Рудачевский // Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2017. – Т. 25. – №3. – С.414-430.

72. Определение содержания терпеновых лактонов в лекарственных средствах, содержащих экстракт гинкго двулопастного / Кисилёва А. Н., Стрельчева К. А., Коган Е. Г., [и др.] // Смоленский медицинский альманах. – 2017. – №1. – С. 216-220.

73. Опыт применения незаменимых аминокислот в комплексной терапии пациентов с ишемическим инсультом в остром периоде / Жумагулова К. Г. Сабырдилда Ж., Кайшибаева Г. С. [и др.]. // Международный неврологический

журнал. – 2016. – №5 (83). – С. 88-90.

74. Особенности накопления макро и микроэлементов в надземной части *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim в разные фенологические фазы / И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов, В. С. Герасимов, А. А. Лешок // Химия растительного сырья. – 2013. – №2. – 189 -193.

75. Оценка качества отваров листьев бадана толстолистного / Т. Ю. Ковалева, В. А. Ермакова, Е. А. Доровских, Д. А. Тращенко // Сборник материалов VII Международной научно-методической конференции «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств». – Воронеж. – 2018. – С. 264-269.

76. Перспективы применения в кардиологической и общеврачебной практике лекарственного растения боярышник / И. Дж. Кароматов, М. С. Давлатова, М. К. Амонов, М. К. Амонов // Биология и интегративная медицина. – 2017. – №1. – С. 251-276.

77. Полиноофит в системе лекарственной реабилитации больных, перенесших инсульт / Е.Ю. Лудупова, Е.В. Ангапова, О.И. Очиров, Т.Ю. Павлова. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2009. - №3 (67). - С.89-91.

78. Пономарев, В.В. Эффективность экстракта Гинкго билоба в лечении легкого и умеренного когнитивного снижения сосудистого генеза с позиции доказательной медицины / В.В. Пономарев, Э.В. Барабанова // Медицинские новости. - 2016. - №4. – С.18-21.

79. Пospelова М. Л. Антиоксидантная активность флавоноидов из цветков лабазника вязолистного *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. / М. Л. Пospelова, О. Д. Барнаулов, Е. В. Туманов // Психофармакология и биологическая наркология. – 2005. – Т. 5 – №1. – С. 841-843.

80. Противострессовое и антидепрессивное действие растительного средства при хроническом умеренном стрессе / Б. А. Муруев, С. М. Гуляев, Л. Н. Шантанова, А. Г. Мондодоев. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2018. – Т. 16 – №2. С. 69-73.

81. Путилина М. В. Алгоритмы рациональной терапии при хронической ишемии головного мозга / М. В. Путилина, Н. В. Теплова // Нервные болезни. – 2019. – №1. – С.10-16.
82. Ражабова Д. М. Новое средство с адаптогенными свойствами - таволга зверобоелистая, лабазник / Д. М. Ражабова, И. Д. Кароматов, Ш. И. Асадова // Биология и интегративная медицина. – 2018. – №1. – С. 263-276.
83. Разработка и исследование фитоэкстрактов, содержащих флавоноиды / Огай М. А., Ковтун Е. В., Чахирова А. А. [и др.]. // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2018. – №2. – С. 90 -103.
84. Регистр лекарственных средств России: сайт. – 2020-2021. – URL <https://www.rlsnet.ru/> (дата обращения 17.09.2020).
85. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / [А.Н. Миронов и др.]; под ред. А.Н. Миронова. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.
86. Самылина И. А. Лекарственные растения, обладающие гормональной активностью: проблема безопасности / И. А. Самылина, В. М. Булаев, В. Е. Ших // Фармация. – 2011. – №1. – С. 38-41.
87. Сбор лекарственных растений ноотропного действия: пат. РФ №2578453: МПК А61К 36/73, А61К 36/185, А61К 36/45, А61Р 25/28 / И.В. Шилова, И.А. Самылина, Н.И. Суслов, Т.Ю. Ковалева, В.М. Баева; патентообладатели Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга", И.В. Шилова, И.А. Самылина, Н.И. Суслов, Т.Ю. Ковалева, В.М. Баева. - № 2015115457/15; заявл. 23.04.2015; опубл. 27.03.2016, Бюл. №9.
88. Сбор лекарственных растений ноотропного действия: пат. РФ №2740897: А61К 36/73, А61К 36/734, А61К 36/16, А61К 36/185, А61К 36/484, А61Р 25/28 / Е.А. Доровских, Т.Ю. Ковалева, В.А. Ермакова, И.А. Самылина, С.Л. Морохина, С.В. Козин, Д.О. Боков; патентообладатель ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет). – №2020111065; Заявл. 17.03.2020; опубл. 21.01.2021;

бюл. №3.

89. Сведения литературы о бадане толстолистном / Уржинлхсш Ж., Федосеева Г. М., Оюунбат Б. [и др.]. // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2004. – Т. 43 – №2. – С. 62-66.
90. Солодка. Биоразнообразие, химия, применение в медицине / Г. А. Толстикова, Г. А. Балтина, В. П. Гранкина [и др.]. – Новосибирск: ГЕО, 2007. – 152 с.
91. Сорокина И. Б. Патогенетические направления терапии хронической цереброваскулярной недостаточности / И. Б. Сорокина // Медицинский совет. – 2011. – №3-4. – С. 101-103.
92. Сравнительное изучение аминокислотного состава представителей рядов *Persicariae formes Kom.* и *Lapathii formes Worosch* / А. С. Чистякова, А. А. Гудкова, А. А. Сорокина, А. И. Сливкин // Химия растительного сырья. – 2019. – №4. – С. 157–162.
93. Сравнительный морфолого-анатомический анализ солодки голой и солодки уральской (*Glycyrrhiza glabra* L., *Glycyrrhiza uralensis* Fisch) / А.Н. Саньков, А.А. Шмыгарева, Е.А. Курунова, А.А. Бердыбекова // Альманах Молодой науки. - 2015. - №1. - С.34-38.
94. Средство, обладающее ноотропной и адаптогенной активностью: пат. РФ №2311193: МПК А61К 36/73, А61Р 25/28 / Н.И. Суслов, И.В. Шилова, Н.В. Провалова, О.В. Першина, Е.А. Краснов, С.Г. Аксиненко, А.В. Горбачев; патентообладатели ГОУ ВПО СибГМУ, Н.И. Суслов, И.В.Шилова, Н.В. Провалова, О.В. Першина, Е.А. Краснов, С.Г. Аксиненко, А.В. Горбачев. - № 2006114551/15; заявл. 27.04.2006; опубл. 27.11.2007, Бюл. №33.
95. Степанова Э. Ф. Использование валидации при выборе методики количественного определения суммы флавоноидов в геле с экстрактом цветков лабазника вязолистного / Э. Ф. Степанова, Л. Б. Губанова, Г. А. Голова // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2008. – №1. – С. 126-129.
96. Табеева Г. Р. Когнитивные и некогнитивные расстройства у пациентов пожилого возраста, ассоциированные со стрессом / Г. Р. Табеева // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2015. – Т. 7. – №1. – С. 87-93.

97. Темиргалиева, Э.М. Солодка в комплексной терапии аллергодерматозов / Э.М. Темиргалиева, О.А. Митковская, А.А. Толыбекова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2012. - №3. - С.33-36.
98. Трихина В. В. Разработка и оценка качества сиропов на основе местного растительного сырья / В. В. Трихина, Н. С. Романенко, С. К. Щипицин // Техника и технология пищевых производств. – 2011. – №4 (23). – С. 122А-126.
99. Усенко Л. В. Когнитивные нарушения после общей анестезии при экстракардиальных вмешательствах и эффект раннего введения тиоцетамав послеоперационном периоде / Л. В. Усенко, И. С. Полинчук // Международный неврологический журнал. – 2011. – №6. – С. 65-69.
100. Файзуллина Р. А. Значение витаминно-минеральных комплексов в педиатрии / Р. А. Файзуллина, А. М. Закирова // Вестник современной клинической медицины. – 2016. – Т.9. – №2. - С. 97-103.
101. Фармакогностическое и фармакологическое исследование сырья боярышника / Морозова Т. В., Куркина А. В., Правдивцева О. Е. [и др.]. // Известия Самарского научного центра РАН. – 2015. – №5-3. – С. 959-963.
102. Фармакогностическое изучение листьев бадана толстолистного / Е. А. Доровских, В. А. Ермакова, Т. Ю. Ковалева, Д. А. Тращенко // Материалы III научно-практической конференции «Международная интеграция в сфере химической и фармацевтической промышленности». – Москва: ИБХТН РУДН, 2018. – С. 56-59.
103. Федеральная электронная медицинская библиотека (ФЭМБ) сайт. – 2011-2021. – URL <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения 20.04.2020).
104. Федосеева Л. М. Анализ арбутина подземных и надземных вегетативных органов бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitch.), произрастающего на Алтае / Л. М. Федосеева // Химия растительного сырья. – 2003. – №1. – С. 73-77.
105. Федосеева Л. М. Изучение и сравнительная оценка липофильных веществ зеленых, красных и черных листьев бадана толстолистного, произрастающего на Алтае / Л. М. Федосеева, Т. С. Малолеткина // Химия растительного сырья. – 1999.

– №2. – С. 113-117.

106. Фенольные соединения и антиоксидантная активность уральский представителей рода *Thymus* (Lamiaceae) / Л. И. Алексеева, Л. В. Тетерюк, А. Г. Быструшкин, Л. А. Булышева // Растительные ресурсы. – 2012. – №1. – С. 110-118.

107. Хасанов В. В. Методы исследования антиоксидантов / В. В. Хасанов, Г. Л. Рыжова, Е. В. Мальцева // Химия растительного сырья. – 2004. – №3. – С. 63–75.

108. Хасанова С. Р. Антиоксиданты и биологически активные соединения сборов / С. Р. Хасанов // Фармация. – 2003. – № 4. – С. 28-29.

109. Хилько С. Л. Антирадикальная активность ванилинов в реакциях с ДФПГ / С. Л. Хилько, Р. А. Макарова, Р. Г. Семенова // Вестник Новгородского государственного университета. – 2017. – 5 (103). – С. 93-96.

110. Химический и биоллюминесцентный биологический анализ экстрактов солодки голой / Наумова Н. В., Мельникова Е. Д., Сафронюк С. Л. [и др.]. // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2016. - Т. 6. - №1. - С.22-26.

111. Чиркина Т. Ф. Перспективные растительные источники биологически активных веществ в Байкальском регионе / Т. Ф. Чиркина, А.М. Золотарева, З. А. Пластинина // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – №1. – С. 71-74.

112. Шабанов П. Д. Адаптогены и антигипоксантаы / П. Д. Шабанов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2003. – №3. – С. 50-81.

113. Шалдаева Т. М. Исследование некоторых видов рода *Filipendula* Mill. На содержание флавоноидов и антиоксидантную активность / Т. М. Шалдаева // Химия растительного сырья. – 2015. – №1. – С. 217-220.

114. Шилова И. В. Исследования по разработке ноотропных средств на основе растений Сибири / И. В. Шилова, Н. И. Суслов // Образовательный вестник «Сознание». – 2011. – №4. – С. 210-212.

115. Шилова И. В. Разработка рационального способа получения экстракта лабазника вязолистного / И. В. Шилова // Здоровье и образование в XXI веке. – 2007. – Т. 9 – №4. – С. 401.

116. Шилова, И.В. Химический состав и ноотропная активность растений Сибири / И.В. Шилова, Н.И. Суслов, И.А. Самылина. – Томск: Изд-во Том. Ун-та, 2010. – 236 с.
117. Шилова И. В. Химический состав растений Сибири и разработка ноотропных средств на их основе: диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук: 14.04.02, 14.03.06 / Шилова Инесса Владимировна. – Томск, 2011. – 512 с.
118. Экспресс-оценка антиоксидантной активности производных урацила / Гимадиева А. Р., Хазимуллина Ю. З., Белая Е. В. [и др.]. // Биомедицинская химия. – 2015. – Т. 61. – №6. – С. 765-769.
119. Anti-biofilm activities from *Bergenia crassifolia* leaves against *Streptococcus mutans* / Y. Liu, Y. Xu, Q. Song [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 1 – 10.
120. Beneficial effects of *Crataegus oxyacantha* extract on neurobehavioral deficits and brain tissue damages induced by an insecticide mixture of deltamethrin and chlorpyrifos in adult wistar rats. / Saoudi M., Salem R.B.S., Salem M.B. [et al.] // *Biomed Pharmacother*. – 2019. - №114 (108795). – P. 1-9.
121. *Bergenia* genus: traditional uses, phytochemistry and pharmacology / B. Koul, A. Kumar, D. Yadav, J. Jin // *Molecules*. – 2020. – № 25. – P. 1 – 19.
122. Characterization of *Ginkgo biloba* leaf flavonoids as neuroexocytosis regulators / Choongjin B., Park J., Cho S. [et al.] // *Molecules*. – 2020. – № 25. – P. 1 – 15.
123. Chemistry and pharmacology of the kazakh *Crataegus almaatensis* Pojark: an asian herbal medicine / Soares S.S., Bekbolatova E., Cotrim M.D. [et al.] // *MDPI Antioxidants*. – 2019. Vol. 8. - № 300. – P. 1-14.
124. Comparative Study of the Biologically Active Substances Composition and Content in Meadowsweet (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim) Crude Herbal Drugs (Herb, Leafs, Flowers) of Russian Origin / Kovaleva T. Yu., Ermakova V. A., Trashchenkova D. A. [et al.] // *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance (India)*. – 2018. – Vol. 9. - № 3. – P. 277-280.

125. Effects of Ginkgo biloba in dementia: systematic review and meta-analysis / Weinmann S., Roll S., Schwarzbach Ch. [et al.] // BMC Geriatrics. – 2010. – № 10(14). – P. 1 – 12.
126. Ethanol extract of chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) fruit reduces inflammation and oxidative stress in rats with doxorubicin-induced chronic heart failure. / Cheng F., Jiang W., Xiong X. [et al.] // Med Sci Monit. – 2020. - № 26 (e92665). – P. 1-10.
127. Ginkgo biloba extract in Alzheimer's disease: from action mechanisms to medical practice / C. Shi, J. Liu, F. Wu [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2010. – № 11. – P. 107 – 123.
128. Ginkgo biloba for preventing cognitive decline in older adults: A Randomized Trial / Beth E. S., O'Meara E. S., Carlson M. C. [et al.] // JAMA. – 2009. – Vol. 302. – № 24. – P. 1 – 16.
129. Ginkgo biloba for prevention of dementia: a randomized controlled trial / DeKosky S. T., Williamson J. D., Fitzpatrick A. L. [et al.] // JAMA. – 2010. – Vol. 300. – № 19. – P. 1 – 21.
130. Ginseng and Ginkgo biloba effects on cognition as modulated by cardiovascular reactivity: a randomised trial / Teik D. O. L., Lee X. S., Lim C. J. [et al.] // PLOS ONE. – 2016. – P. 1 – 20.
131. HPLC-ED analysis of phenolic compounds in three bosnian *Crataegus* species. / Culum D., Copra-Janicijevic A., Vidic D. [et al.] // MDPI. Foods. – 2018. Vol. 7. - № 66. – P. 1-7.
132. In vitro protection by *Crataegus microphylla* extracts against oxidative damage and enzyme inhibition effects. / Renda G., Özel A., Barut B. [et al.] // Turk J Pharm Sci. – 2018. - Vol. 15. - № 1. – P. 77-84.
133. Kleijnen J. Ginkgo biloba for cerebral insufficiency / J. Kleijnen, P. Knipschild // British Journal of Clinical Pharmacology. – 1992. – № 34. – P. 352-358
134. Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): A phytochemical and pharmacological review / Pastorino G., Cornara L., Soares S. [et al.] // Phytotherapy Research. – 2018. – №. 32. – P. 2323 – 2339.

135. Medicinal Plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications / Shikov A. N., Pozharitskaya O. N., Makarov V. G [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2014. – № 154. – P. 481 – 536.
136. Nassiri Asl M. Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds // M. Nassiri Asl, H. Hosseinzadeh // Phytotherapy Research. – 2008. – № 22. – P. 709 – 724.
137. Olennikov D. N. Meadowsweet teas as new functional beverages: comparative analysis of nutrients, phytochemicals and biological effects of four Filipendula species / D. N. Olennikov, N. I. Kashchenko, N. K. Chirikova // Molecules. – 2017. – Vol. 22. – № 16. – P. 1 - 23.
138. Phenolic Compounds and Biological Activity of Badan (*Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch) Leaves Growing in Russia / Kovaleva T.Yu., Ermakova V.A., Dorovskih E.A. [et al.] // Systematic Reviews in Pharmacy (India). – 2020. – Vol. 11 - № 5. – P. 368-374.
139. Polyphenolic composition of *Crataegus monogyna* Jacq.: from chemistry to medical applications / Nabavi S.F., Habtemariam S., Ahmed T. [et al.] // Nutrients. – 2015. – Vol. 7 - № 9. - P. 7708-7728.
140. Properties of *Ginkgo biloba* L.: antioxidant characterization, antimicrobial activities, and genomic microrna based marker fingerprints / Ražná K., Sawinska Z., Ivanišová E. [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – № 21. – P. 1 – 20.
141. Rabiei Z. Phytotherapy in treatment of Parkinson's disease: a review // Z. Rabiei, K. Solati, H. Amini-Khoei // Pharmaceutical Biology. – 2019. – Vol. 57. – № 1. – P. 355 – 362.
142. Review of *Ginkgo biloba*-induced toxicity, from experimental studies to human case reports / Nan M., Xiaoqing G., Zhen R. [et al.] // Journal of Environmental Science and Health Part C Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews. – 2017. – Vol. 35. – № 1. – P. 1 – 28.
143. Rutin as a Potent Antioxidant: Implications for Neurodegenerative Disorders / A. B. Enogieru, W. Haylett, D. C. Hiss and others // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2018. – P. 1-17.

144. Sierpina V. S. Ginkgo biloba / V. S. Sierpina, B. Wollschlaeger, M. Blumenthal // American family physician. – Vol. 68. – № 5. – 2003. – P. 923 – 926.
145. Singh V. Review and meta-analysis of usage of ginkgo as an adjunct therapy in chronic schizophrenia / V. Singh, S. P. Singh, K. Chan // International Journal of Neuropsychopharmacology. – № 13. – 2010. – P. 257 – 271.
146. The beneficial role of Filipendula ulmaria extract in prevention of prodepressant effect and cognitive impairment induced by nanoparticles of calcium phosphates in rats / Arsenijevic N., Selakovic D., Stankovic J. S. K. [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2021. – Vol. 2021. – P. 1 – 12.
147. The joint effect of a combination of components from the fruit of *Crataegus pinnatifida* Bge. Var. *major* N.E. br. and the root of *Salvia miltiorrhiza* Bge. with exercises on swimming in focal cerebral infraction in rat. / Ding S., Wang W., Yin X. [et al.] // Front Physiol. – 2020. – Vol.11 (574535). – P. 1-14.
148. The neuroprotective mechanisms of ginkgolides and bilobalide in cerebral ischemic injury: a literature review / Zili F., Qian S., Wang C. [et al.] // Molecular Medicine. – 2019. – № 25(57). – P. 1 – 8.
149. Traditional uses, bioactive chemical constituents and pharmacological and toxicological activities of *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae) / El-Saber Batiha G., Beshbishy A. M., El-Mleeh A. [et al.] // Biomolecules. – 2020. – Vol. 10. – № 352. – P. 1 – 19.
150. Treatment effects of Ginkgo biloba extract EGb 761® on the spectrum of behavioral and psychological symptoms of dementia: meta-analysis of randomized controlled trials / Savaskan, E., Mueller H., Hoerr R. [et al.] // International Psychogeriatrics. – 2017. – Vol. 2021. – P. 1 – 9.
151. Wang, J. Effect of *Crataegus* usage in cardiovascular disease prevention: an evidence-based approach. / J. Wang, X. Xiong, B. Feng // Evidence-based complementary and alternative medicine. – 2013. - Vol. 2013. - №149363. – P. 1-14.
152. Zorniak M. *Crataegus* special extract WS 1442: up-to-date review of experimental and clinical experiences / M. Zorniak, B. Szydło, T.F. Krzeminski // Journal of physiology and pharmacology. - 2017. Vol. 68. - № 4. - P. 521-526.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А – Проект фармакопейной статьи

ПРОЕКТ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ

Сбор ноотропного действия

ФС.

Nootropic species

Настоящая фармакопейная статья распространяется на ноотропный сбор, состоящий из листьев гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba folia*), листьев бадана толстолистного (*Bergeniae crassifoliae folia*, травы таволги вязолистной (*Filipendulae ulmariae herba*), корней солодки (*Glycyrrhizae radices*), плодов боярышника (*Crataegi fructus*).

Состав:

листья гинкго двулопастного	50%
листья бадана толстолистного	20%
трава таволги вязолистной	20%
корни солодки	5%
плоды боярышника	5%

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. *Сбор измельченный.* . Сбор представляет собой смесь частиц проходящие сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм, состоящих из кусочков листьев, черешков, цветков, стеблей, плодов, корней, различной формы, преимущественно зеленого цвета с вкраплениями желтого, красного, белого, коричневого:

- кусочки листьев различной формы с ровным краем, а также тонких черешков зеленого с вкраплениями желто-зеленого цвета, на листьях при рассмотрении заметно дихотомическое жилкование листа (листья гинкго

двулопастного);

- кусочки кожистых листьев различной формы зеленого, буро-зеленого цвета, с крупными кусочками черешков различной формы белого цвета иногда с остатками эпидермиса на черешке с вкраплением красного и коричневого (листья бадана толстолистного);

- кусочки листьев различной формы темно-зеленого цвета, фрагменты стеблей соломенного цвета иногда с вкраплениями фиолетового с цветками бело-желтого цвета, на листья выделяются белые жилки (трава таволги вязолистной);

- волокнистые желтые кусочки корней, иногда с темно-коричневой пробкой (корни солодки);

- кусочки плодов различной формы красного и красно-коричневого цвета, иногда с вкраплениями белого (плоды боярышника);

Запах слабый специфического, вкус водного извлечения вяжущий специфический.

Микроскопические признаки. *Сбор измельченный.* При рассмотрении микропрепаратов должны быть видны:

- верхний эпидермис представлен вытянутыми клетками неправильной или 3-4-угольной формы с извилистыми стенками, имеют четковидные утолщения, на нижней стороне листа клетки имеют извилистые стенки и менее вытянутую форму, а также расположены аномоцитные устьичные комплексы (листья гинкго двулопастного);

- лист характеризуется наличием аномоцитного устьичного комплекса, клетки эпидермиса имеют 5-6-угольную форму с ярко выраженными четковидными утолщениями, встречаются друзы оксалата кальция вдоль главной жилки листа и круглые железки, которые расположены в углублениях с обеих сторон листа, состоящие из многоклеточной ножки и многоклеточной круглой головки (листья бадана толстолистного);

- для микропрепарата листьев характерны слегка вытянутые прямоугольные слегка извилистые клетки эпидермиса, аномоцитный устьичный

комплекс и наличие простых одноклеточных волосков с заостренным концом по краю листа, а также вдоль жилки, одноклеточных длинных извилистых волосков с нижней стороны листа вдоль жилки, а также железистых волосков с многоклеточной головкой и двурядной ножкой; в мезофилле находится большое количество крупных шарообразных друз оксалата кальция (микропрепарат листа с поверхности травы таволги вязолистной);

- при рассмотрении микропрепарата наблюдается многорядная пробка, состоящая из многоугольных клеток; встречаются фрагменты округлых паренхимных клеток с призматическими кристаллами оксалата кальция, фрагменты сетчатых сосудов со щелевидными окаймленными порами, группы волокон с кристаллоносной обкладкой (корни солодки);

- эпидермис плодов представлен многоугольными клетками, на котором редко встречаются простые одноклеточные волоски; мякоть плода содержит округлые клетки с хромопластами оранжевого цвета, друзы и призматические кристаллы оксалата кальция, также встречаются группы каменистых клеток (плоды боярышника).

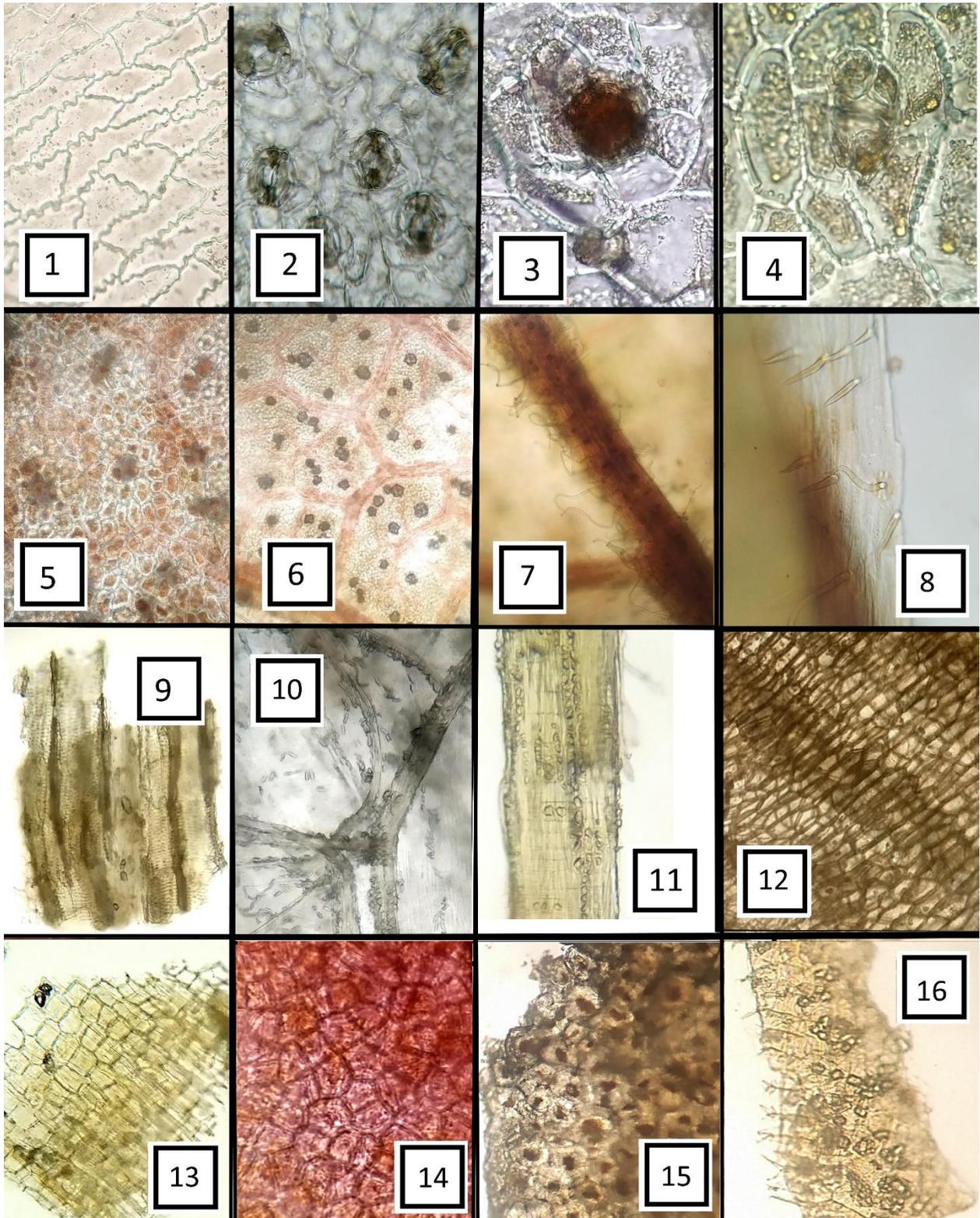


Рисунок - анатомо-диагностические признаки сбора

1 - фрагмент верхнего эпидермиса листа гинкго двулопастного. (ув. х 400); 2 - фрагмент нижнего эпидермиса листа гинкго двулопастного. (ув. х 400); 3 - фрагмент эпидермиса листа бадана толстолистного с железкой и друзой оксалата кальция (ув. х 400); 4 - фрагмент эпидермиса листа бадана толстолистного с аномоцитным устьичным комплексом (ув. х 400); 5 - фрагмент микропрепарата листа с поверхности таволги вязолистной (ув. х 100); 6 - фрагмент микропрепарата листа с поверхности таволги вязолистной (ув. х 40); 7 - фрагмент жилки листа

таволги вязолистной с простыми длинными одноклеточными извилистыми волосками (ув. х 400); 8 – фрагмент жилки листа таволги вязолистной с простыми одноклеточными волосками 9 - фрагмент сетчатых сосудов с окаймленными щелевидными порами корня солодки (ув. х 100); 10 - механическая ткань с кристаллоносной обкладкой (ув. х 100); 11 - волокна с кристаллоносной обкладкой корней солодки (ув. х 400); 12 - фрагмент пробки корня солодки (ув. х 100); 13 – паренхимные клетки коры корней солодки с призматическими кристаллами оксалата кальция (ув. х 100); 14 - фрагмент клеток эпидермиса плодов боярышника (ув. х 100); 15 - группа каменистых клеток плодов боярышника (ув. х 200); 16 - фрагмент клеток мякоти плодов боярышника с кристаллами оксалата кальция.

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография

Приготовление растворов.

Раствор стандартного образца (СО) рутина. Около 0,005 г СО рутина растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Раствор стандартного образца (СО) кверцетина. Около 0,005 г СО кверцетина растворяют при нагревании в 10 мл спирта 96 % при нагревании на водяной бане.

Раствор стандартного образца (СО) гиперозида. Около 0,005 г СО гиперозида растворяют при нагревании в 10 мл спирта 96 % при нагревании на водяной бане.

Раствор стандартного образца (СО) хлорогеновой кислоты. Около 0,005 г хлорогеновой кислоты растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес. при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Приготовление дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствора 1 % в спирте 96 %. 1,0 г дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира растворяют в 100 мл спирта 96 %. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Приготовление полиэтиленгликоля раствора 5 % в спирте 96 %. 5 мл полиэтиленгликоля 400 смешивают со 100 мл спирта 96 %. Срок годности раствора не более 6 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Около 1,0 г измельченного сбора (до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм) помещают в коническую колбу со шлифом

вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 %, нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 20 мин. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на полимерной подложке размером 10 × 10 см наносят 10 мкл (0,01 мл) испытуемого раствора и по 10 мкл (0,005 мл) растворов стандартных образцов (СО) рутина, (СО) кверцетина, (СО) гиперозида, (СО) хлорогеновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру (предварительно насыщенную не менее 1 час) в систему органических растворителей безводная муравьиная кислота – вода – этилацетат (10:8:34) и хроматографируют восходящим способом.

После прохождения фронтом растворителей около 80-90 % длины пластинки от линии старта ее вынимают из камеры, высушивают до удаления следов растворителей в вытяжном шкафу. Затем пластинку нагревают в сушильном шкафу в течение 2-3 мин при 100-105 °С и еще теплую обрабатывают последовательно дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1 % в спирте 96 %, затем макрогола 400 раствором спиртовым 5 % и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора СО рутина должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией оранжевого цвета, (СО) кверцетина оранжевого цвета, (СО) гиперозида оранжевого цвета, (СО) хлорогеновой кислоты голубого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться последовательно следующие зоны адсорбции: 3 зоны адсорбции оранжевого цвета, напротив зон адсорбции СО кверцетина, СО гиперозида и СО рутина, затем зона адсорбции голубого цвета напротив зоны адсорбции СО хлорогеновой кислоты, после допускается наличие 3-5 зон адсорбции (последовательно 4 зоны адсорбции

оранжевого, сине-фиолетового, голубого, светло-оранжевого цвета – фенольные соединения).

Качественные реакции.

- при добавлении к 1 мл водного извлечения сбора 1 мл алюминия хлорида раствора 1% должно наблюдаться желтое окрашивание раствора (флавоноиды);
- при добавлении к 1 мл водного извлечения сбора 2-3 капель железа(III) аммония сульфата раствора 1 % должно наблюдаться черно-зеленое окрашивание (дубильные вещества);
- при добавлении к 2 мл водного извлечения сбора 2 мл 0,1% свежеприготовленного раствора нингидрина при последующем осторожном нагревании, должно появляться устойчивое красно-фиолетового окрашивания (аминокислоты).

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Сбор измельченный* - не более 9 %.

Зола общая. *Сбор измельченный* - не более 11 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Сбор измельченный* - не более 6 %.

Зараженность вредителями запасов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение степени зараженности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов вредителями запасов».

Масса содержимого упаковки. В соответствии с требованиями ОФС «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

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.

Сбор измельченный - сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,5 %, экстрактивные вещества извлекаемые водой не менее 30 %, экстрактивные вещества извлекаемые 70% спиртом не менее 35%.

Определение экстрактивных веществ, извлекаемых водой, проводят в соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (экстрагент вода, этанол 70%).

Около 1 г измельченного сырья (точная навеска), просеянного сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 30 мл 70% спирта. Затем колбу соединяли с обратным холодильником и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтровали через ватный тампон в мерную колбу вместимостью 100 мл. Вату помещали в колбу для экстрагирования и прибавляли 30 мл 70% спирта. Экстракция повторялась еще 2 раза в тех же условиях, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводили до метки 70% спиртом (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл раствора алюминия хлорида 5% в 95% спирте, 3 мл извлечения, 2-3 капли разведенной соляной кислоты

и доводили объем раствора 70% спиртом до метки. Через 40 мин измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 406 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 3 мл извлечения, 2-3 капли разведенной соляной кислоты и доведенный 70 % спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл (раствор Б).

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца (СО) рутина, приготовленного аналогично испытываемому раствору.

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

$$X = \frac{A \times 25 \times 100 \times 100}{A^{1\%}_{1\text{см}} \times m \times 3 \times (100 - W)},$$

где X – содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %;

A - оптическая плотность испытываемого раствора;

$A^{1\%}_{1\text{см}}$ - удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлорида при длине волны 406 нм, равный 190;

m - навеска сырья, г;

W - потеря в массе при высушивании сырья, %.

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 Б – Акт внедрения в учебный процесс



«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по учебной работе,
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени
Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)

Т.М. Литвинова,

_____ 2020 г.

АКТ

внедрения в учебный процесс
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
результатов диссертационного исследования

Доровских Екатерины Анатольевны

на тему: «Фармакогностическое изучение и стандартизация сбора ноотропного действия».

по направлению подготовки 33.06.01 «Фармация» (направленность подготовки 14.04.02 «фармацевтическая химия, фармакогнозия»)

Мы, нижеподписавшиеся, д.ф.н. профессор, зав. учебной частью кафедры фармацевтического естествознания Бобкова Наталья Владимировна, к.б.н., доцент, зав. кафедрой фармацевтического естествознания Луферов Александр Николаевич удостоверяем факт внедрения научной работы Доровских Екатерины Анатольевны в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Материалы исследователя используются при чтении лекций и проведения семинаров со студентами 3,4 курсов, в области исследований по стандартизации лекарственного растительного сырья и препаратов ноотропного действия, а также лекарственных растительных сборов.

Зав. кафедрой фармацевтического естествознания
к.б.н., доцент

/А.Н. Луферов/

Зав. учебной частью
кафедры фармацевтического естествознания
д.ф.н., доцент

/Н.В. Бобкова/

Приложение В – Акт внедрения

«Утверждаю»

Заместитель генерального директора

по качеству ООО Фирма «Здоровье»



М.А. Смирнова

2021г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Авторы: ассистент кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) Доровских Е.А.;

Профессор кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) доктор фармацевтических наук, профессор Ермакова В.А.

Объекты внедрения: раздел проекта нормативной документации «Подлинность» (внешние и микроскопические признаки, тонкослойная хроматография, качественные реакции) на сбор ноотропного действия.

Источник информации: результаты исследований диссертации на соискание кандидата фармацевтических наук, проект НД на ноотропный сбор.

Где и кем проведено внедрение: Отдел контроля качества ООО Фирма «Здоровье».

Цель внедрения: Определение характеристик подлинности при анализе качества ноотропного сбора и входящих в него компонентов.

Результаты внедрения: описание внешних и анатомо-диагностических признаков позволяют достоверно определять качество ноотропного сбора и входящих в него компонентов при их анализе.

Начальник отдела контроля качества
ООО Фирма «Здоровье»

Т.А. Белоус

Приложение Г – Патент

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2740897

СБОР ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НООТРОПНОГО
ДЕЙСТВИЯ

Патентообладатель: *федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2020111065

Приоритет изобретения 17 марта 2020 г.

Дата государственной регистрации в
Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 21 января 2021 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 17 марта 2040 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев



Авторы: *Доровских Екатерина Анатольевна (RU), Ковалева
Татьяна Юрьевна (RU), Ермакова Валентина Алексеевна (RU),
Самылина Ирина Александровна (RU), Морохина Светлана
Львовна (RU), Козин Сергей Валерьевич (RU), Боков Дмитрий
Олегович (RU)*

RU 2740897 C1

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) **RU** (11) **2 740 897**⁽¹³⁾ **C1**(51) МПК
A61K 36/73 (2006.01)
A61K 36/734 (2006.01)
A61K 36/16 (2006.01)
A61K 36/185 (2006.01)
A61K 36/484 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)**(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**(52) СПК
A61K 36/73 (2020.08); A61K 36/734 (2020.08); A61K 36/16 (2020.08); A61K 36/185 (2020.08); A61K 36/484 (2020.08); A61P 25/28 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2020111065, 17.03.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
17.03.2020Дата регистрации:
21.01.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 17.03.2020

(45) Опубликовано: 21.01.2021 Бюл. № 3

Адрес для переписки:

119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2,
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.
Сеченова, Центр коммерциализации
технологий

(72) Автор(ы):

Доровских Екатерина Анатольевна (RU),
Ковалева Татьяна Юрьевна (RU),
Ермакова Валентина Алексеевна (RU),
Самылина Ирина Александровна (RU),
Морохина Светлана Львовна (RU),
Козин Сергей Валерьевич (RU),
Боков Дмитрий Олегович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования Первый Московский
государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2578453 C1, 27.03.2016. RU
2171114 C1, 27.07.2001. T.YOSHITAKE et al. The
Ginkgo biloba extract EGb761; ααϕϕ; and its
main constituent flavonoids and ginkgolides
increase extracellular dopamine levels in the rat
prefrontal cortex //B.J. Pharmacology, 09.02.2010,
1, 159(3): 659-68. FR 2855056 A1, 26.11.2004. EP
2703002 A1, 05.03.2014.

(54) СБОР ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НООТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ

(57) Формула изобретения

Сбор лекарственных растений, обладающий ноотропным действием, включающий
листья гинкго билоба, листья бадана толстолистного, траву лабазника вязолистного,
корни солодки, плоды боярышника при следующем соотношении компонентов, мас. %:

листья гинкго билоба	30-50
листья бадана толстолистного	20-40
травя лабазника вязолистного	20-40
корни солодки	5-10
плоды боярышника	5-10

Стр.: 1

RU 2 740 897 C 1

RU 2 740 897 C 1