

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



Соколова Альбина Наильевна

Изучение состава и разработка методов стандартизации побегов и листьев
***Potentilla fruticosa* (L.)**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук, профессор
Нестерова Ольга Владимировна

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1 Общая характеристика и систематическое положение семейства Розоцветные (<i>Rosaceae</i>)	16
1.2 Систематика и ареал распространения представителей рода <i>Potentilla</i> L.	16
1.2.1 Ботаническая характеристика рода <i>Potentilla</i> L.	18
1.3 Краткая характеристика вида и сортов курильского чая, распространенных в России	19
1.3.1 Распространение	22
1.3.2 Химический состав курильского чая	24
1.3.3 Терапевтический потенциал и фармакологические аспекты применения курильского чая	30
1.4 Современные подходы к стандартизации лекарственного растительного сырья	33
1.5 Выводы к Главе 1	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	37
2.1 Объекты исследования	37
2.2 Реактивы и стандартные вещества, используемые при проведении диссертационного исследования	37
2.3 Морфолого-анатомическая характеристика и выявление диагностических признаков исследуемого сырья	38
2.4 Посуда и вспомогательные материалы	39
2.5 Морфолого-анатомическая характеристика и выявление диагностических признаков исследуемого сырья	40
2.6 Качественная идентификация основных групп биологически активных веществ в сырье курильского чая	40
2.7 Оценка содержания и нормирование биологически активных соединений в сырье курильского чая	43

2.7.1 Полифенольные соединения.....	43
2.7.2 Дубильные вещества	44
2.7.3 Полисахариды	45
2.7.4 Органические кислоты	46
2.7.5 Экстрактивные вещества	47
2.8 Анализ аминокислотного состава образцов лапчатки кустарниковой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с постколоночной derivатизацией	47
2.9 Анализ образцов лапчатки кустарниковой методом жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии.....	50
2.10 Разработка и экспериментальное обоснование числовых показателей качества побегов курильского чая	52
2.11 Водные извлечения.....	52
2.12 Оценка антимикробного потенциала и фунгистатического действия извлечений из курильского чая	53
ГЛАВА 3. МАКРОСКОПИЧЕСКИЙ И МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОБЕГОВ, ЛИСТЬЕВ И ЦВЕТКОВ КУРИЛЬСКОГО ЧАЯ	54
3.1 Морфологическая характеристика и установление диагностических признаков цельного и измельченного сырья	54
3.2 Изучение анатомо-диагностических признаков	59
3.3 Выводы к Главе 3.....	64
ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ.....	65
4.1 Качественный анализ и системная оценка содержания различных групп биологически активных веществ	65
4.1.1 Тонкослойная хроматография на дубильные вещества.....	67
4.1.2 Тонкослойная хроматография на полисахариды.....	70
4.1.3 Тонкослойная хроматография на органические кислоты.....	70
4.2 Количественное определение биологически активных веществ в сырье курильского чая	72

4.2.1	Определение экстрактивных веществ	72
4.2.2	Определение содержания полисахаридов	74
4.2.3	Определение содержания дубильных веществ	75
4.2.4	Определение фенольных соединений.....	78
4.2.5	Определение содержания органических кислот.....	82
4.3	Анализ аминокислотного состава образцов лапчатки кустарниковой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с постколоночной derivatизацией	83
4.4	Анализ частей побегов лапчатки кустарниковой (стебли, листья, цветки) методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии.....	87
4.4.1	Анализ растворов стандартов для качественной идентификации компонентов образца.....	87
4.4.2	Идентификация компонентов.....	97
4.5	Выводы к Главе 4.....	103
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА НОРМАТИВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ СТАНДАРТИЗАЦИИ ПОБЕГОВ КУРИЛЬСКОГО ЧАЯ		106
5.1	Установление показателей качества в сырье курильского чая	106
5.2	Приготовление и анализ водных извлечений из побегов <i>Potentilla fruticosa</i> (L.).....	109
5.3	Выводы к Главе 5.....	110
ГЛАВА 6. ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ.....		112
6.1	Изучение антибактериальной и антимикотической активности	112
6.2	Выводы к Главе 6.....	114
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....		116
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.....		117
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ		119
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ		120
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....		121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....		122

ПРИЛОЖЕНИЕ А. Акт о внедрении результатов диссертации в учебный процесс кафедры химии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)	146
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Акт о внедрении результатов диссертации в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)	147
ПРИЛОЖЕНИЕ В. Акт о внедрении результатов в производственную практику.....	148
ПРИЛОЖЕНИЕ Г. Проект фармакопейной статьи «Лапчатки кустарниковой побеги - <i>Potentilla fruticosa cormi</i> »	149

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

На сегодняшний день стандартизация и контроль качества лекарственных средств, включая растительные, сохраняют приоритетное значение для российской фармации. Одним из ключевых направлений научных исследований является поиск лекарственного растительного сырья (ЛРС), сочетающего антиоксидантные, антибактериальные, противовоспалительные эффекты с целью последующей разработки средств для лечения и профилактики воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). По данным официальной статистики, патологии ЖКТ выступают в качестве третьей по частоте причины летальных исходов, составляя около 0,08 % (80 случаев на 100 тыс. человек), при этом ежегодно фиксируется рост летальных исходов в среднем на 0,003 % (URL: <https://rosstat.gov.ru>).

Современный фармацевтический рынок располагает широким спектром фармакотерапевтических средств, обладающих диверсифицированными механизмами действия, направленными на купирование и превенцию воспалительных процессов в ЖКТ, однако вследствие развития аллергических реакций и индивидуальной непереносимости многие препараты имеют ограниченное применение, особенно у детей и пожилых пациентов. Перспективным лекарственным растением сочетающим в себе антиоксидантные, антибактериальные, фунгицидные, гипогликемические, противовоспалительные и противоязвенные эффекты является *Potentilla fruticosa* (L.) (Мифтахова С. А, 2020; Требухов А. В. и др., 2024).

Однако, до настоящего времени не сформирован достаточный объем верифицированных данных о свойствах сырья курильского чая, что препятствует разработке нормативной документации и регламентированию его применения в

официальной медицине. Комплексное исследование данного вида и его экстрактов актуально для современной фармации.

Степень разработанности темы исследования

В современной научно-информационной базе данных, как в отечественной, так и мировой имеются отдельные результаты исследований, которые главным образом сосредоточены на химическом составе и фармакологической активности растений рода *Potentilla* (Савельева Е. Е. и др., 2020; Савельева Е. Е. и др., 2022; Сергалиева М. У. и др., 2024). Результаты анализа фракции флавоноидов и полифенольных веществ представлены в работах Андышевой Е.В. и др. (2020) и Хуе Н и др.(2022).

Согласно многим литературным источникам, курильский чай уже давно используется в народной и восточной медицине (тибетской, индийской, китайской и монгольской). Анализ научной литературы показал растущий интерес исследователей к изучению особенностей фармакологического действия *Potentilla fruticosa* (L.). Так, в работах Liu Z. и др., (2016) и Qin Y. и др., (2022) показано наличие антиоксидантной активности извлечений из сырья курильского чая и синергетический эффект в сочетании с полифенолами зеленого чая. Исследование Zeng Y. и др., (2020) показало наличие антибактериальной активности фракции флавоноидов, содержащихся в курильском чае в отношении микроорганизмов *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*.

В работе Хуе Н. с соавторами (2022) подтверждено гастропротективное действие экстрактов курильского чая. Несмотря на доказанный широкий спектр фармакологической активности и обширную сырьевую базу, представленную как дикорастущими, так и культивируемыми популяциями, побеги, цветки и листья курильского чая до настоящего времени не имеют статуса официального лекарственного растительного сырья и не включены в Государственную фармакопею.

Цель и задачи исследования

Цель исследования заключается в комплексном фармакогностическом изучении и научном обосновании критериев подлинности и показателей доброкачественности побегов и листьев курильского чая, а также в разработке системы его стандартизации как перспективного вида лекарственного растительного сырья.

Для достижения цели исследования необходимо решить следующие научные задачи:

1. Проанализировать актуальное состояние изученности представителей рода *Potentilla* и объекта исследования (*Potentilla fruticosa* (L.)) по данным релевантной литературы.

2. Выполнить комплексное анатомо-морфологические исследование листьев, побегов и цветков курильского чая, определить ключевые идентификационные характеристики и установить критерии аутентичности исследуемых образцов.

3. Провести качественный и количественный анализ основных групп биологически активных веществ (БАВ) в надземных органах курильского чая (листьях, побегах) с применением современных физико-химических методов.

4. Предложить и обосновать методы стандартизации лекарственного растительного сырья курильского чая.

5. Установить значения числовых показателей, определяющих доброкачественность сырья курильского чая, и провести оценку антимикробной и антимикотической активности.

6. Разработать проект фармакопейной статьи (ФС) «Лапчатки кустарниковой побеги» на основе результатов фармакогностических исследований в соответствии с современными требованиями.

Научная новизна

Научно обоснована совокупность анатомо-морфологических критериев цельного и измельченного сырья, позволяющих идентифицировать внешний вид стебля, листьев и цветков *Potentilla fruticosa* (L.) и исключить их фальсификацию смежными видами. Установлено, что все части растения опушены, лист имеет характерное строение - сложный непарноперистый лист с 3-мя сидячими и 2-мя отдельными листочками. При микроскопии выявлено наличие волосков двух типов: простые и головчатые (железистые), а также включения оксалата кальция, представленные друзами и кристаллами различной формы. Впервые с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии представлен детальный анализ аминокислотного фонда различных частей растения. Посредством жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии (ЖХ-МС) расшифрована структура фенольного комплекса, а содержание флавоноидных соединений и танинов уточнено методами спектрофотометрии и титриметрии. Установлено количественное содержание органических кислот алкалиметрическим методом, а также найдено содержание суммы полисахаридов методом гравиметрии. Впервые определены числовые показатели, обеспечивающие объективную оценку доброкачественности.

Полученные результаты интегрированы в разрабатываемый проект нормативного документа «Лапчатки кустарниковой побег». Кроме того, в ходе исследований была верифицирована фармакологическая активность сырья, проявляющаяся в подавлении роста бактериальной и грибковой микрофлоры.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в исследовании нового ЛРС — лапчатки кустарниковой (*Potentilla fruticosa* (L.)), интродуцированной в средней полосе России, и получении фундаментальных данных о ее анатомо-

морфологических, фитохимических и фармакологических свойствах для расширения ассортимента отечественного ЛРС.

В ходе проведенной работы изучены микроскопические признаки листьев, побегов и цветков курильского чая, обоснованы значимые анатомо-диагностические признаки сырья, рекомендованные для включения в проект фармакопейной статьи (ФС).

Впервые осуществлена количественная оценка содержания экстрактивных веществ в побегах, листьях и цветках, а также суммарного содержания полисахаридов в вегетативных органах лапчатки кустарниковой. Определен компонентный состав полифенольных соединений и выявлена динамика накопления дубильных веществ в зависимости от фазы вегетации в условиях интродукции в средней полосе европейской части России (на примере Московской и Тверской областей). Впервые определен качественный и количественный состав аминокислот в исследуемом сырье.

На основании проведенных исследований разработаны и научно обоснованы параметры, обеспечивающие идентификацию и контроль качества исследуемого сырья, доказана его антибактериальная и антимикотическая активность, а также разработан проект ФС «Лапчатки кустарниковой побеги».

Внедрение результатов в практику

Основные теоретические выводы и практические результаты работы интегрированы в образовательную деятельность Института Фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет):

1. Внедрены в учебный цикл кафедры химии при реализации элективного курса «Химия биополимеров» и специализированной программы ДОП, сфокусированной на анализе маркерных соединений в многокомпонентных фитопрепаратах, предназначенных для студентов, обучающихся по специальности 33.05.01 Фармация (Акт №812 от 08.12.2026, Приложение А).

2. На кафедре фармацевтического естествознания результаты диссертации включены в лекционные курсы и практические занятия по основным дисциплинам «Фармакогнозия» и «Ботаника» по направлению специальности 33.05.01 Фармация (Акт 811 от 08.12.2026, Приложение Б).

Также, материалы работы используются в производственной деятельности ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России для оценки качества фитопрепаратов (Акт б/н от 05.03.2026, Приложение В).

Методология и методы исследования

Методологическая база исследования сформирована в соответствии с нормативными требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации (XV издания) и Фармакопеи Евразийского экономического союза. Для оценки качества и аутентичности сырья использован комплекс фармакогностических методов (макро- и микроскопия) и химических анализов (гравиметрия и титриметрия). Идентификацию и количественное определение действующих веществ проводили с применением высокочувствительных физико-химических методов: спектрофотометрии и хроматографии. В рамках работы также проведена скрининговая оценка антимикробного и антимикотического действия изучаемых объектов. Статистическая верификация и систематизация данных осуществлены в программной среде MS Excel.

Положения, выносимые на защиту

1. Результаты выявленных морфолого-анатомических признаков побегов, листьев и цветков курильского чая в цельном, измельченном и порошкообразном виде, обеспечивающий достоверную идентификацию и установление подлинности лекарственного растительного сырья.

2. Результаты идентификации полифенольных соединений, флавоноидов, аминокислот, органических кислот и полисахаридов в исследуемом сырье.
3. Результаты количественного содержания основных групп биологически активных веществ (БАВ) в побегах, листьях и цветках курильского чая, характеризующие фитохимический профиль исследуемого сырья.
4. Результаты сравнительного анализа БАВ из водных и водно-спиртовых извлечений побегов курильского чая и определение их показателей качества.
5. Результаты изучения антибактериальной и антимикотической активности.
6. Научно обоснованная система показателей качества и их нормативных значений, интегрированная в проект нормативной документации, обеспечивающая объективную оценку и стандартизацию сырья курильского чая.

Степень достоверности и апробация результатов

Полученные результаты достоверны и полностью соответствуют поставленным целям и задачам исследования.

Достоверность результатов исследования обусловлена обширным объемом экспериментальных повторений, использованием современного сертифицированного оборудования – микроскопа «ЛОМО МИКМЕД-6», вакуумного центрифужного концентратора (тип SpeedVac), центрифуги, роторного испарителя, системы L-8800 (Hitachi, Ltd.), хроматографической системы Waters Acquity UPLC, оснащенной диодно-матричным и tandemным квадрупольным масс-селективным детектором (TQD, Waters), — и применением высокочувствительных методов анализа: высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), тонкослойной хроматографии (ТСХ), жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии (ЖХ-МС), а также статистической значимостью результатов, подтвержденной программным комплексом Microsoft Office Excel.

Материалы диссертации докладывались и получили положительную оценку на конференциях международного и всероссийского уровней, в частности: «Новое слово в науке: стратегии развития» (Чебоксары, 2022) и «Фармобразование-2023» (Воронеж, 2023), «Молодые учёные России» (Пенза, 2026).

Диссертация апробирована на заседании кафедры химии Института фармации им. А. П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) «23» марта 2026 г., протокол № 11.

Личный вклад автора

Соколовой Альбине Наильевне принадлежит основная роль в выборе темы диссертационной работы, формулировке цели и задач, необходимых для её достижения, построении плана исследования, а также в проведении патентно-информационного поиска, характеризующего степень разработанности темы и перспективы дальнейшего использования побегов лапчатки кустарниковой (*Potentilla fruticosa* (L.)). Автором самостоятельно осуществлена заготовка побегов и листьев, проведен весь комплекс фармакогностических исследований нового растительного сырья, включающий определение морфологических и анатомо-диагностических признаков, идентификацию и количественное определение основных групп биологически активных веществ. Соискателем выполнены систематизация полученных данных и их оформление в виде завершённого научного труда. Самостоятельно подготовлен проект фармакопейной статьи на исследуемый вид сырья. На всех этапах выполнения диссертационной работы вклад Соколовой Альбины Наильевны является определяющим.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование по своей направленности и содержанию соответствует паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия,

фармакогнозия. Основные научные положения и результаты работы находятся в рамках установленной предметной области и релевантны пунктам 2, 3, 5 и 6.

Связь темы исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Исследование проведено в соответствии с приоритетными направлениями научной деятельности кафедры химии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Диссертация является составной частью комплексной темы «Разработка подходов к анализу, стандартизации, оценке качества, и сертификации биологически активных соединений синтетического и природного происхождения, лекарственных препаратов, медицинских изделий (технологические и экологические аспекты)» (номер государственной регистрации 01.2.011.68237).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 7 научных работ, из которых 3 статьи входят в Перечень ВАК при Минобрнауки России, 3 доклада в сборниках трудов международных и всероссийских форумов, еще 1 иная публикация по результатам исследования.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 158 страницах машинописного текста и имеет традиционное построение. Содержание включает вводную часть, аналитический обзор литературы, описание материалов и методов, изложение собственных результатов и выводы. Научный аппарат дополнен перечнем принятых сокращений, библиографическим списком из 179 наименований (включая 46

зарубежных публикаций) и 4 приложениями. Визуализация экспериментальных данных обеспечена иллюстративным материалом: 51 рисунком и 36 таблицами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общая характеристика и систематическое положение семейства Розоцветные (*Rosaceae*)

Одно из самых многочисленных и богатейших семейств цветковых двудольных растений, распространенных почти по всему земному шару (Рисунок 1) – семейство Розоцветных или Розовых (*Rosaceae*).

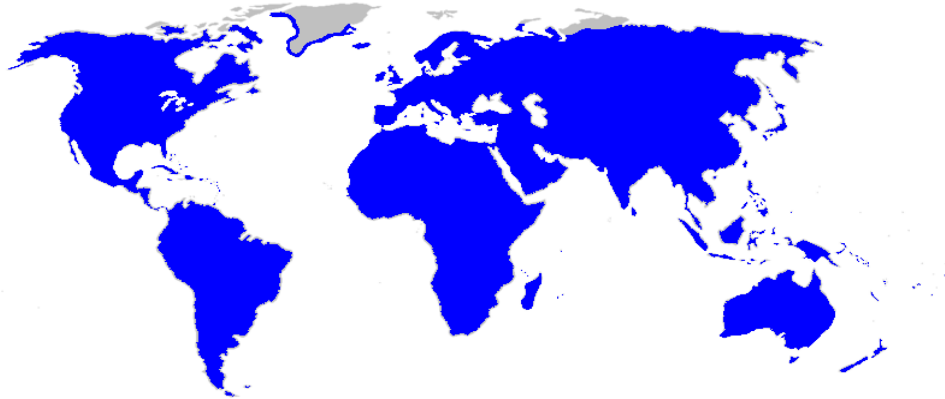


Рисунок 1 – Ареал распространения семейства Розоцветных (*Rosaceae*) [110]

Согласно классификации APG IV, по состоянию на 2024 год, семейство *Rosaceae* насчитывает 117 родов и 6 028 ботанических видов [170]. К крупным родам относят - *Potentilla*, *Rosa*, *Alchemilla*, к средним – *Cotoneaster*, *Crataegus* и *Rubus*, и к мелким – *Sorbus*, *Geum* и *Fragaria*. Ряд видов применяются в медицине и фитотерапии [103].

1.2 Систематика и ареал распространения представителей рода *Potentilla* L.

Одним из перспективных и привлекательных родов семейства розоцветные является род *Potentilla* L., произрастающий преимущественно в условиях умеренного, полярного и высокогорного климата северных широт [175] (Рисунок 2).



Рисунок 2 – Географическая локализация и границы ареала представителей рода *Potentilla* L. [175]

Согласно Plants of the World Online (POWO), род включает в себя 513 подтвержденных видов [165].

В роде *Potentilla* L., согласно системе APG IV, самые изученные это:

Potentilla alba L.

Potentilla anglica Laichard.

Potentilla argentea L.

Potentilla erecta (L.) Rausch.

Potentilla indica (Andrews) F.T.Wolf

Potentilla intermedia L.

Potentilla micrantha Ramond ex DC.

Potentilla norvegica L.

Potentilla recta L.

Potentilla reptans L.

Potentilla sterilis (L.) Garcke

Potentilla supina L.

Potentilla verna L.

Но, к сожалению, на данный момент, в качестве официального лекарственного растительного сырья в Государственной фармакопее Российской Федерации единственным представителем рода *Potentilla* L. является *Potentilla erecta* L. (XIV ГФ РФ, ФС.2.5.0023.15) [16], также корневища лапчатки

прямостоячей включены Европейскую, Немецкую, Британскую и Французскую фармакопеи. В Государственную фармакопею Китайской Народной Республики включен лишь один вид — *Potentilla chinensis* Ser. [120]. Другие представители рода, хотя и подвергались фитохимическому анализу различными авторами, в официальные стандарты качества КНР не включены.

Многообразие таксонов рода *Potentilla* L., охватывающее как природные популяции, так и культивируемые формы, отражено в Таблице 1.

Таблица 1 – Ряд представителей дикорастущих и садовых форм *Potentilla* L.

Дикорастущие	Культивируемые в европейской части России
Лапчатка гусиная (<i>Potentilla anserina</i> L.)	Лапчатка кустарниковая (<i>Potentilla fruticosa</i> (L.))
Лапчатка прямостоячая (<i>Potentilla erecta</i> (L.) Rauschert)	Лапчатка гибридная (<i>Potentilla hybrida</i>)
Лапчатка серебристая (<i>Potentilla argentea</i> L.)	Лапчатка непальская (<i>Potentilla nepalensis</i> L.)
Лапчатка ползучая (<i>Potentilla reptans</i> L.)	Лапчатка весенняя (<i>Potentilla verna</i> L.)
Лапчатка индийская (<i>Potentilla indica</i> (Andr.) Wolf)	Лапчатка топяная (<i>Potentilla palustris</i> (L.) Scop.)

Указанное разделение является относительным. Это обусловлено способностью культурных видов к натурализации в естественной среде, а также широкой практикой переноса дикоросов в искусственные условия для декоративного или хозяйственного использования.

1.2.1 Ботаническая характеристика рода *Potentilla* L.

Растения рода *Potentilla* L. преимущественно представлено травянистыми растениями, однако встречаются и кустарники (*P. fruticosa* (L.)). Исследователем Безделеевой Т.А. было отмечено, что род *Potentilla* L. имеет 2 модели

побегообразования: симподиальная полурозеточная и моноподиальная розеточная, и для большинства видов характерна вторая модель побегообразования [5].

Побеги у ряда видов – восходящие или прямостоячие с верхушечным соцветием; у другой группы - стелющиеся, либо ползучие, укореняющиеся [5]. Однако, на кустарнике, кроме генеративных укороченных побегов, параллельно образуется достаточное количество вегетативных, моноподиально нарастающих побегов, из которых преимущественно строится вегетативное тело растения (*P. fruticosa* (L.)).

Листья лапчатки сложные, тройчатые или многочленные, пальчатые или перистые с мелкими сидячими листочками, которые опадают по сочленениям – под верхним тройчатым сегментом и в месте прикрепления нижней пары (если она развита), и пленчатыми прилистниками [39], обычно покрыты волосками [149].

Цветки лапчатки обычно имеют пять лепестков и могут быть жёлтыми, белыми, розовыми, красными или оранжевыми, в зависимости от вида. Они часто собраны в соцветия или зонтики и относительно небольшие [149], по общей структуре приближены к земляникам - цветоложе выпуклое, но сухое. Околоцветник пятимерный, но иногда четырехмерный (*P. erecta*) [108].

Плод – сборная семянка, плодики многочисленные, от 10 до 80 шт., орешковидные, голые или (редко) волосистые, односемянные [39].

1.3 Краткая характеристика вида и сортов курильского чая, распространенных в России

Лапчатка кустарниковая (*Potentilla fruticosa* (L.)), или пятилистничник или пятилистник кустарниковый (*Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz), чаще всего в обиходе называют курильским чаем, название которого пошло из-за обнаружения его на Курильских островах. В народе, в некоторых регионах России, растение прозвали «Могучка» [26, 55], из-за его «могучих» целебных свойств и способности

образовывать плотные кусты. В Европе из-за волосистости листьев лапчатку называют *Dasiphora fruticosa*, что в переводе «несущий густые волосики».

Курильский чай представляет собой высушенные, неодревесневшие, олиственные побеги, с цветками, которые обычно заготавливаются в период бутонизации (с конца мая – начало октября).

Согласно, научной классификации, представленной на Рисунке 3, курильский чай относится к:



Рисунок 3 – Систематическое положение растения [149]

Вид *Potentilla fruticosa* (L.) разделен на два подвида: *Potentilla fruticosa* subsp. *Fruticosa* (цветки однополые - мужские и женские, тетраплоидные) и *Potentilla fruticosa* subsp. *Floribunda* (обоеполые цветки, а растения в основном диплоидны).

Всего известно более 130 сортов *Potentilla fruticosa* (L.). [39, 57, 58, 60, 77], которые представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Некоторые декоративные сорта *Potentilla fruticosa* (L.) [102]

Сорт	Описание
Элизабет	Желтоцветковый сорт, высота кустарника около 0,5-0,8 м, диаметр кроны до 1,2 м. Цветет в мае-сентябре, цветки светло-желтые диаметром до 4 см.
Саммерфлор	Желтоцветковый сорт, высота кустарника около 0,6 м. Листья сизо-зеленые, мелкие. Цветки золотисто-жёлтые. Цветёт с июня и до сильных заморозков.
Хачманс Гигант	Желтоцветковый сорт, высота кустарника 60 -70 см с подушковидной кроной диаметром около 100 см. Цветки светло-золотистые, диаметром 4-5 см, цветут с июня по октябрь. Листья сложные, состоят из 5 (иногда из 3 или 7) листочков, по цвету летом — зеленые с серебристым оттенком из-за ворсистого опушения, осенью — желтые.
Голдфингер	Желтоцветковый сорт, высота кустарника до 1,0-1,3 метра и диаметром кроны до 1,3 метров. Крона плотная, широкоокруглая, побеги вертикальные. Листья зеленые, довольно мелкие. Цветки крупные, ярко-желтого цвета, раскрываются в июне и сохраняются на кустах до конца октября.
Лонгакре	Желтоцветковый сорт, кустарник со стелющимися побегами, подушковидной кроной, высота которой достигает 0,6 метра. Листья перисто-сложные, с ланцетными листочками серо-зеленого цвета. Цветки светло-желтые, с выраженным, более темным центром. Цветет июнь – октябрь.
Голдстар	Желтоцветковый сорт, кустарник достигает 0,8 м, диаметр кроны до 1,2 м. Листья серо-зеленого цвета, состоят из листочков ланцетной формы, длиной не более 3 см. Цветет с июня по октябрь ярко-желтыми цветками, диаметром примерно 5 см.
Голд Тепич	Желтоцветковый сорт, кустарник высотой около 0,7 м, а диаметр кроны до 1 м. Цветение в мае-октябре. Цветки крупные, интенсивно желтые.
Кобольд	Желтоцветковый сорт, высота кустарника до 0,6-0,8 м. Цветки ярко-желтые. Обильно цветет с мая по октябрь.
Джекман Вариети	Желтоцветковый сорт, один из самых высокорослых сортов, высотой до 1,2 м, прямостоячий кустарник с небольшими перистыми серо-зелеными листьями и светло-желтыми цветами диаметром до 4 см.
Катерина Дукс	Желтоцветковый сорт, один из самых высокорослых сортов, высотой до 1,5 м, диаметр подушковидной кроны до 1,5 м. Листья декоративны, имеют сизовато-зеленую окраску. Цветки кремово-желтые, до 4 см в диаметре.
Примроуз бьюти	Желтоцветковый сорт, густой кустарник высотой 1 м подушковидной кроной. Листья темно зеленые. Цветки светло-желтые.

Продолжение Таблицы 2

Хоплес оранж	Кустарник высотой 0,8 м с крупными оранжево-красные цветками с длинными желтыми тычинками. Листья зеленые, перистые, с шелковистым блеском из-за коротких серебристых волосков.
Абботсвуд	Пряморастущий густой кустарник, округлой формы, высотой 0,7-0,8 м с белыми цветками. Листья сложные, светло-зеленые, состоят из 3-5 листочков около 2-3 см длиной. Цветки одиночные, 2,5 см в диаметре.
Тилфорд Крим	Густой кустарник с кремово-белые цветками, с плоско округлой кроной, в высоту достигает около 50 см. Листья зеленого цвета. Цветки от 3,5 до 5 см в диаметре.
Ред Айс	Высота до 0,7 м при диаметре кроны в 1,2 м. Генеративные органы представлены цветками в красно-желтых тонах. Листовой аппарат состоит из сложных листьев с варьирующим числом листочков (от 3 до 7). Наличие трихом (опушения) обеспечивает листьям специфический серебристый блеск, который в конце вегетации сменяется сезонной желтизной.
Пинк принцесс	Стелющийся кустарник высотой не более 0,8 м, отличающийся плотной подушковидной структурой надземной части, разрастающейся в ширину до 1,2 м. Сорт отличается нетипичной расцветкой цветков – розовой окраски с желтой серединкой, 3 см в диаметре.
Аннет	Желтоцветковый сорт, кустарник со стелющимися побегами и низкой кроной до 0,5 метра высотой и около 0,8 метра шириной. Лист представлен непарноперистосложными листочками насыщенно-изумрудного цвета.
Танжерин	Растение обладает плотным габитусом и стелющимся типом ветвления при средней высоте 0,5 м. Для вида характерны сложные листья с серовато-изумрудным отливом. Цвет от жёлто-золотого до медно-оранжевого.
Белиссима	Густоветвистый кустарник с интенсивно дифференцированной кроной, высота которого не более 60 см. Светло-зеленые листья со временем темнеют, приобретают серебристый оттенок и легкое опушение. Цветки полумахровые, яркие, насыщенно-розовые, крупные, по мере цветения не выгорают.

1.3.1 Распространение

Курильский чай кустарниковый на территории России распространен в Восточной Сибири (включая Алтай, Саяны, Забайкалье), на Дальнем Востоке (Приамурье, Приморье, Камчатка и Сахалин), в горах Средней Азии (Восточный

Казахстан), на Урале и на Кавказе. За пределами страны – Монголия, Китай, Япония, Корея, Турции, также встречается в Западной Европе и в Северной Америке [53, 54, 62, 91, 133]. На Рисунке 4 представлен ареал распространения *Potentilla fruticosa* (L.) на территории РФ.



Рисунок 4 – Ареал распространения *Potentilla fruticosa* (L.) в РФ

Произрастает преимущественно в горах и наиболее часто встречается в верхней части лесного и субальпийского поясов, поднимаясь до 3100 м над уровнем моря (Рисунок 5) [139, 145, 166, 173].

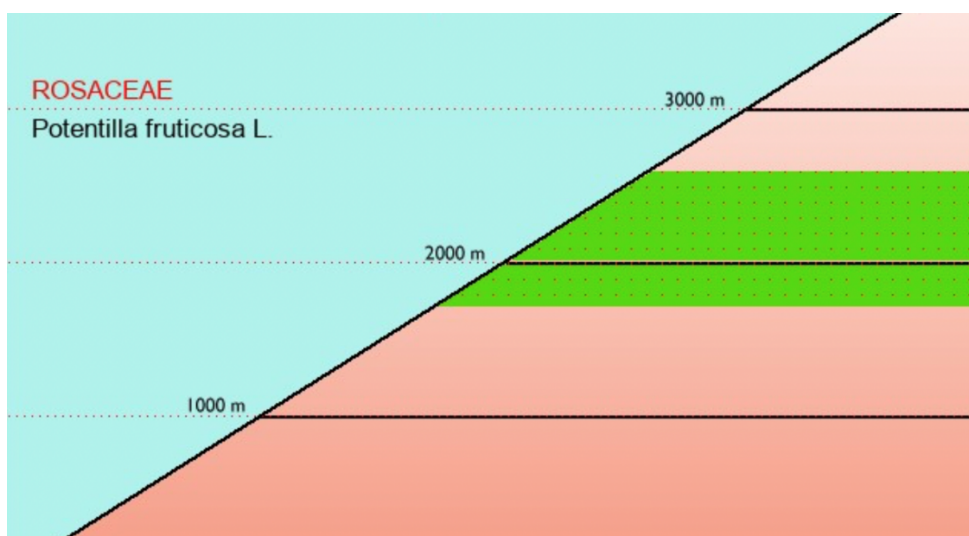


Рисунок 5 – Высота обитания *Potentilla fruticosa* (L.) [166]

Также, произрастает на каменистых склонах, осыпях, речных галечниках, в лесах, на лугах, в поймах рек и вдоль русел ручьев [55].

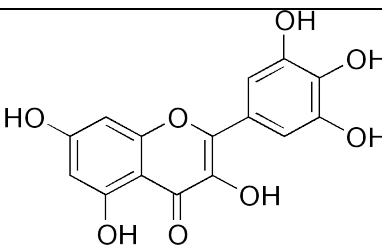
Курильский чай известен своей неприхотливостью, холодоустойчивостью и долгим цветением (с июня до начала октября).

Как декоративное растение курильский чай культивируется по всему миру. Впервые в конце XVIII в. в ботаническом саду г. Санкт-Петербурга с выращивания в открытом грунте *Pentaphylloides fruticosa* и уже в 1824г. был выявлен 2 вид - *Pentaphylloides glabrata*. В настоящее время курильский чай продолжает культивироваться и уже насчитывает более 130 сортов, отличающихся формой куста и цветом соцветий (жёлтые, оранжевые, розовые, красные, кремовые). Растение активно используется в ландшафтном дизайне [55].

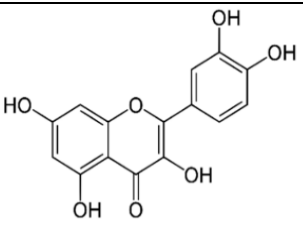
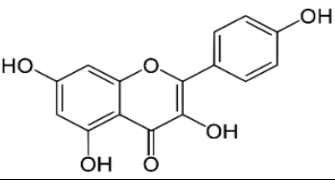
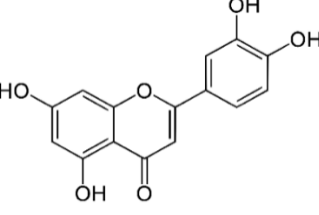
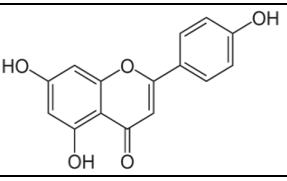
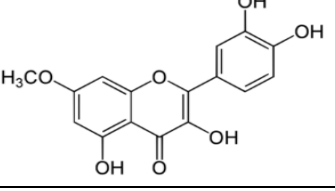
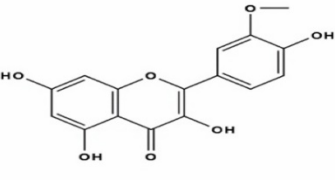
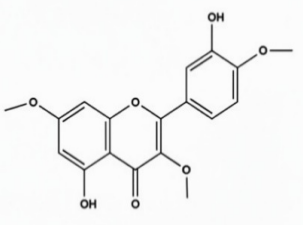
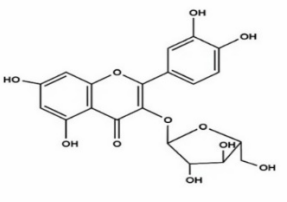
1.3.2 Химический состав курильского чая

Представители рода *Potentilla* известны содержанием различных групп БАВ и являются перспективными лекарственными растениями [102]. Так, например, Таблица 3 свидетельствует богатый химический состав в сырье *Potentilla fruticosa* (L.), на основании анализа имеющихся литературных данных.

Таблица 3 – Фитохимический профиль различных морфологических групп сырья *P. fruticosa* (L.)

Соединение	Формула	Сырьё			Ссылка на источник литературы
		Побеги	Листья	Цветки	
Флавонолы					
Мирицетин		+	+	+	[179]

Продолжение Таблицы 3

Кверцетин		+	+	+	[31, 60, 62, 148, 176, 179]
Кемпферол		+	+	+	[31, 60, 62, 176, 179]
Лютеолин		+	+	+	[179]
Апигенин		+	+	+	[179]
Рамнетин		+	+	+	[31, 176, 179]
Изорамнетин		+	+	+	[179]
3,7,4'-три- <i>O</i> -метилкверцетин (Аянин)		+	+	+	[3]
Гликозиды флавонолов					
Кверцетин-3- α -L-арабинофуранозид (авикулярин)		+	+	+	[123]

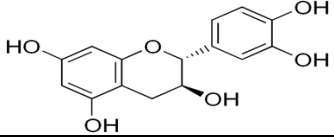
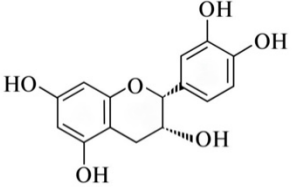
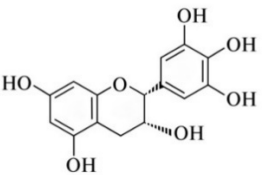
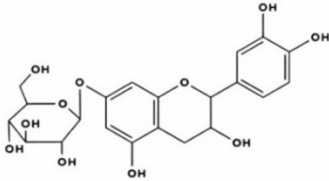
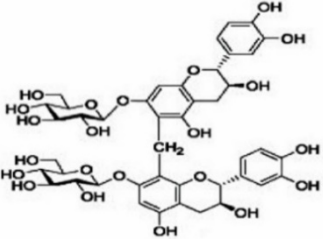
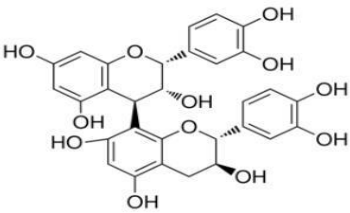
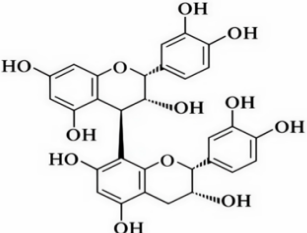
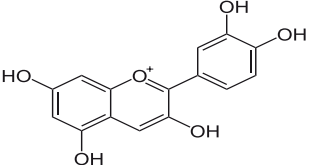
Продолжение Таблицы 3

Кверцетин-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкоронид		+	+	+	[179]
Кверцетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -галактопиранозид (Гиперозид)		+	+	+	[123, 152, 160, 163, 176]
Кверцетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкопиранозид (изокверцитрин)		+	+	+	[123]
Кверцетин-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -рамнопиранозид (кверцитрин)		+	+	+	[123]
Кверцетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкуронид		+	+	+	[179]
Кверцетин-3- <i>O</i> - β -рутинозид (рутин)		+	+	+	[3, 123]
Кверцетин-6'- <i>O</i> -галлат-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -галактопиранозид		+	+	+	[122]

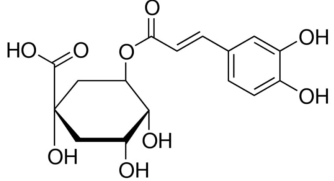
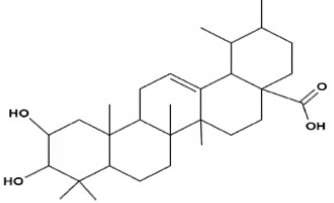
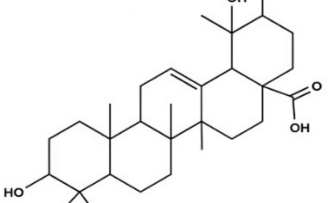
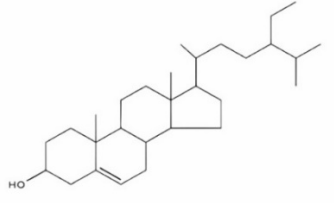
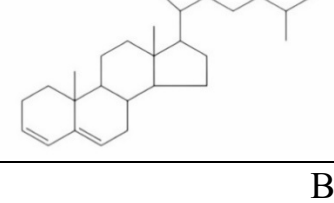
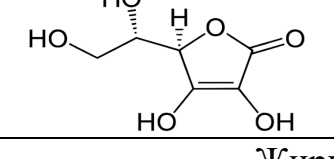
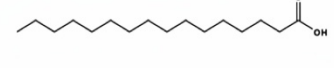
Продолжение Таблицы 3

Рамнетин-3- α -арабинофуранозид		+	+	+	[122, 123]
Рамнетин-3- β -глюкопиранозид		+	+	+	[122, 123]
Рамнетин-3- β -галактопиранозид		+	+	+	[122, 123]
3- β -D-Кемпферол-глюкопиранозид (астрагалин)		+	+	+	[122, 123]
Кемпферол-3-O- β -рутинозид (никотифлорин)		+	+	+	[3, 123]
Кемпферол-3-O- β -(6'-O-(E)- <i>n</i> -кумарил)-глюкопиранозид		+	+	+	[122]
Гидролизуемые танины					
Эллаговая кислота		+	+	+	[31, 118, 152, 160]

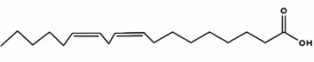
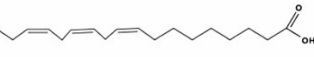
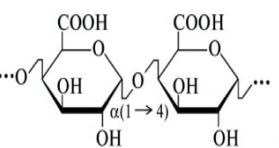
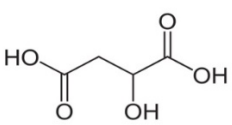
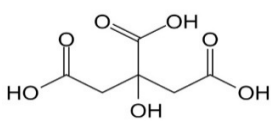
Продолжение Таблицы 3

Катехины					
Катехин		+	+	+	[152, 160]
Эпикатехин		+	+	+	[152, 160]
Эпикатехин галлат		+	+	+	[152, 160]
(+)- Катехин-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> - глюкопиран озид		+	+	+	[179]
Метиленов ый-6,8-бис- (7- <i>O</i> - глюкозил) катехин		+	+	-	[137]
Проантоцианидины					
Проантоциа нидин <i>B</i> -1		+	+	+	[31]
Проантоциа нидин <i>B</i> -2		+	+	+	[31]
Цианидин		+	+	+	[31]

Продолжение Таблицы 3

Фенолкарбоновые кислоты					
Хлорогеновая кислота		+	+	+	[31]
Тритерпеноиды					
2 α -гидроксиурсоловая кислота		+	+	+	[12, 21, 154]
2,19-дигидроксиурсоловая кислота		+	+	+	[12, 154]
Стероиды					
β -ситостерин		+	+	+	[118]
Стигмастан-3,5-диен		+	+	+	[118]
Витамины					
Аскорбиновая кислота (Витамин С)		+	+	+	[125, 137]
Жирные кислоты					
Пальмитиновая кислота		+	+	+	[118, 109, 126]

Продолжение Таблицы 3

Линолевая кислота		+	+	+	[118, 109, 126]
Линоленовая кислота		+	+	+	[118, 109, 126]
Пектины					
Пектин		-	+	+	[125]
Органические кислоты					
Яблочная кислота		+	+	+	[154]
Лимонная кислота		+	+	+	[154]

В ходе исследования установлена вариабельность распределения минерального комплекса в различных частях лапчатки кустарниковой. В частности, для надземной части (фитомассы листьев и побегов) характерна специфическая динамика аккумуляции - Ca и K, а в подземных органах - Ti, Fe, Cr, Ni, Co [151]. Среди них K, Ca, Fe и ряд других элементов классифицируются как эссенциальные (жизненно важные), обладающие выраженной биогенной значимостью для человеческого организма [7].

1.3.3 Терапевтический потенциал и фармакологические аспекты применения курильского чая

Разнообразный спектр фенольных соединений и других биологически активных компонентов лапчатки кустарниковой определяет многообразие её

физиологического влияния на организм. Благодаря наличию фенольных соединений курильский чай обладает мощной антиоксидантной [10, 30, 117, 128, 144, 150, 162, 177], иммуностимулирующей [8, 52, 79, 96, 100, 121, 143] и противовирусной активностями [100, 162]. Наличие флавоноидов также обеспечивает желчегонный и спазмолитический эффекты [78, 101, 128].

Имеются исследования, доказывающие антиаллергическое [74], гепатопротекторное [153], гиполипидемическое [37, 130], ранозаживляющее [10, 11, 66], анксиолитическое, успокаивающее [50], иммунокорректирующее [13], антимикробное [9, 96], гипогликемическое [130] и гастропротекторное фармакологические действия [59].

Извлечения из курильского чая обладают выраженным ингибирующим действием в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, включая *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* и *Staphylococcus aureus* [9, 85, 102].

Экстракты лапчатки кустарниковой оказывают модулирующее влияние на метаболические показатели, снижая избыточный уровень билирубина и активность аланинаминотрансферазы. *P. fruticosa* минимизирует повреждающее действие чужеродных соединений на микросомальный аппарат печени и выступает ингибитором окислительного стресса, предотвращая деструкцию липидных слоев в микросомальной фракции гепатоцитов [153].

Было выявлено, что экстракт *P. fruticosa* не вызывает аллергических реакций и не оказывает токсического воздействия на иммунитет [20].

Соотношение дубильных веществ, тритерпеновых соединений и антикоагулянтов оказывают кровоостанавливающее действие без гиперкоагуляции, наличие сапонинов предполагает органотропность к кишечнику, легким, поджелудочной железе, центральной нервной системе.

В тибетской, индийской, монгольской и китайской медицине курильский чай кустарниковый используется на протяжении многих веков [59, 60, 99, 100, 129]. На фармацевтическом рынке, в настоящее время, курильский чай встречается в виде фиточаев, травяных сборов и биологически активных добавок, представленных в

Таблице 4. В источниках упоминаются преимущественно отечественные производители [82].

Таблица 4 – Ассортиментный перечень и характеристика продукции на основе сырья *P. fruticosa* (L.), представленные на фармацевтическом рынке РФ

№	Торговое наименование	Состав	Форма выпуска, дозировка	Производитель (страна)
1.	Фиточай «Алтай» курильский чай (цветки и листья)	Верхушечные побеги лапчатки кустарниковой	Фильтр-пакеты (1,5 г × 20 шт.)	Алтайский кедр (Россия)
2.	Лапчатка пятилопастная (курильский чай)	Побеги лапчатки пятилопастной	Пакет, 100 г.	Биолит (Россия)
3.	Лапчатка кустарниковая (курильский чай)	Лапчатка кустарниковая травя 100 % сырье	Чайный напиток, 50 г	Лекра-Сэт (Россия)
4.	Курильский чай	Неодревесневшие побеги лапчатки кустарниковой	Травяной сбор, 100 г и 250 г	Родные травы (Россия)
5.	Курильский чай	Высушенные и измельченные листья и стебли курильского чая (лапчатки)	Картонная пачка, 1 кг	Сибирская коллекция (Россия)
6.	Травяной сбор с курильским чаем, сенной и клевером	Листья сенны, кора крушины, листья крапивы, корень лопуха, листья смородины, цветки ромашки, курильский чай, травя клевера	Фильтр-пакеты (30 шт. по 45 г)	ВкусВилл (Россия)
7.	«Алфит-28» Дисбактериозный	Побеги лапчатки кустарниковой, лен посевной (семя), труповик косотрубчатый (чага), ромашка аптечная	Фитосбор в брикетах	Фармацевтический завод «ГАЛЕН» (Россия)

Продолжение Таблицы 4

8.	Курильский чай с добавлением зеленого чая	Смесь курильского и зеленого чая	Плитка 50гр	Сибирская коллекция (Россия)
9.	Бай чай «С курильским чаем и душицей» (Успокаивающий)	Талкан, цельное сухое молоко, экстракт курильского чая, экстракт душицы	10 пакетиков по 12 гр.	Алтын Бай (Россия)
10.	Осинол	Экстракт коры осины экстракт курильского чая корень девясила пижма корень одуванчика лист сенны	Туба с 90 таблетками	ООО «НПП Радуга» (Россия)

1.4 Современные подходы к стандартизации лекарственного растительного сырья

Для составления надлежащей программы аттестации сырья курильского чая необходимо рассмотреть актуальные подходы в области стандартизации ЛРС.

Опираясь на нормативные стандарты, изложенные в ГФ РФ XV издания (далее — ГФ РФ XV изд.) и Фармакопею Евразийского экономического союза (далее — ЕАЭС), лекарственное растительное сырьё должно быть охарактеризовано соответствующим образом [17, 112].

Комплексный анализ ЛРС базируется на сочетании верификации компонентного состава и количественного анализа целевых групп соединений (БАВ). Методологическая база современных исследований структурирована по принципу разделения на химические, физико-химические (инструментальные), физические и биологические способы оценки качества.

Ведущим способом оценки качества ЛРС является химический метод, направленный на детальное изучение элементного и молекулярного состава

объекта. Применение данной методологии охватывает как процедуры идентификации, так и точное измерение массовой доли биологически активных соединений [6, 25, 49]. При качественном анализе проводится обнаружение или идентификация веществ, а количественный анализ показывает концентрацию обнаруженных веществ (титриметрия и гравиметрия) [68, 115, 133].

Физический анализ предполагает регистрацию аналитического сигнала, отражающего спектральные, ядерные или оптические свойства образца. Отличительной чертой данной методологии является получение данных без проведения химических реакций [17]. Данная группа включает различные виды спектрального анализа (УФ-спектроскопию, атомно-абсорбционную, эмиссионную, флуоресцентную и рентгеновскую методики). Применение указанных физических методов позволяет эффективно решать задачи как идентификации, так и количественного определения целевых компонентов.

Методология физико-химического анализа базируется на измерении физических характеристик, которые трансформируются или генерируются в процессе химического взаимодействия. Такие методы позволяют установить количественные и качественные показатели объекта через фиксацию аналитического сигнала, обусловленного природой протекающих химических превращений [27, 49, 65, 73, 119, 135, 149, 176]. Среди физико-химического инструментария, применяемого для стандартизации БАВ, ведущую роль занимают оптические техники: спектрофотометрия, колориметрия и фотоколориметрия [1, 27, 47, 127] и хроматография: ГХ и ВЭЖХ выступают в роли универсальных инструментов для полнопрофильного качественного и количественного контроля, ТСХ только для экспресс-идентификации [44, 42, 73, 84, 89, 106, 127, 135, 140, 146, 156, 161, 168]. Основным физико-химическим методом количественного анализа является спектрофотометрия [27], с помощью которой в основном определяют суммарное содержание полифенольных соединений, флавоноидов и реже алкалоидов [87, 116].

Биологические методы анализа используются для определения микробиологической чистоты для оценки безопасности ЛРС [81].

1.5 Выводы к Главе 1

1. Выполнен анализ литературных источников (отечественных и зарубежных) для оценки характеристики изученности химического состава, фармакологического действия курильского чая. Установлено, что *Potentilla fruticosa* (L.) имеет широкое распространение, содержит комплекс веществ различных групп БАВ, широко используется в народной и восточной медицине.

2. Показано, что семейство *Rosaceae* одно из обширных семейств, включающее 117 родов, а род *Potentilla* относят к крупным родам.

3. Установлено, что несмотря на широкое распространение БАВ на фармацевтическом рынке РФ, побеги *Potentilla fruticosa* (L.) изучены недостаточно. В отечественной и зарубежной литературе представлено незначительное количество публикаций, в которых систематизированы и полно отражены данные о химическом составе таких групп, как экстрактивные вещества, полисахариды, аминокислоты и полифенольные соединения (включая дубильные вещества). Это обуславливает необходимость проведения систематического фитохимического исследования, на основании которого могут быть разработаны методики идентификации и количественного определения БАВ в данном виде сырья. Курильский чай встречается на рынке в виде фиточаев, травяных сборов и биологически активных добавок (БАД). На текущий момент в Государственном реестре лекарственных средств (ГРЛС) РФ отсутствуют зарегистрированные лекарственные препараты на основе данного растения. Недостаточность экспериментально полученных данных о составе БАВ, а также об антимикробной и антимикотической активности сырья обуславливает актуальность фармакогностического исследования побегов *Potentilla fruticosa* (L.) с целью расширения перечня отечественного ЛРС и последующего создания лекарственных средств на его основе.

4. Подтверждена актуальность стандартизации *Potentilla fruticosa* (L.), поскольку наблюдается дефицит экспериментально обоснованной информации о его химическом составе и фармакологических свойствах. Работа направлена на

интеграцию данного вида в перечень официальных источников сырья с целью последующего создания на его основе оригинальных фармацевтических продуктов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

Объектом исследования служили высушенные и свежие побеги, полуодревесневшие стебли, листья и цветки лапчатки кустарниковой (*Potentilla fruticosa* (L.)) сорта «Голдстар», заготовленные в период 2021-2025 гг., собранные в различных районах Московской (г. Москва, Ботанический сад Сеченовского университета; г. Истра; Чеховский и Клинский районы) и Тверской областей в период бутонизации (июнь). Использовалась воздушно-тенивая сушка в течение трех суток. В работе также использовали коммерчески доступные образцы фитосбора «Курильский чай» производства компании «Русские корни».

Сохранность объектов исследования обеспечивали использованием бумажной упаковки в условиях, соответствующих требованиям ГФ РФ XV изд. и Фармакопеи ЕАЭС [17, 112], а именно с отсутствием прямого солнечного света и соблюдением температурно-влажностного режима (влажность воздуха не превышала 65 %) при постоянной вентиляции.

2.2 Реактивы и стандартные вещества, используемые при проведении диссертационного исследования

При проведении аналитических работ, нами были использованы реактивы, квалификации не ниже (чистые для анализа), а также стандартные образцы (СО) коммерчески доступные на рынке РФ, представленные на Рисунке 6.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ РЕАКТИВЫ И СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ (СО)	
РЕАКТИВЫ	СО
<ul style="list-style-type: none"> • Азот жидкий (криогенный), ГОСТ 9293-74. • Аммиак концентрированный, ГОСТ 3760-79. • Ацетон, ТУ 6-09-3513-82. • Ацетонитрил, ТУ 6-09-4326-76. • Бутанол-1 (н-бутанол), ГОСТ 6006-78. • Вода очищенная, ФС.2.2.0020.18. • Гексан, ТУ 6-09-4521-77. • Глицерин, раствор для наружного применения (Ивановская ФФ, Россия). • Кислота соляная, ГОСТ 3118-77. • Кислота уксусная, ГОСТ 61-75. • Натрия гидроксид (натрий едкий), ГОСТ 4328-77. • Раствор метиленового синего 0,1 %, ТУ 6-09-29-76. • Раствор фенолфталеина спиртовой 1 %, ГОСТ 4919.1-2016. • Смесь аминокислот стандартная, AAS18-5ML (Sigma Aldrich, Германия). • Спирт этиловый ректифицированный, ГОСТ 18300-87. • Хлороформ, ТУ 2631-004-45579693-2001. • Элюент А (Merck Hitachi, AAA PH-1 Buffer, AN0-8706). • Элюент В (Merck Hitachi, AAA PH-2 Buffer, AN0-8707). • Элюент С (Merck Hitachi, AAA PH-3 Buffer, AN0-8708). • Элюент D (Merck Hitachi, AAA PH-4 Buffer, AN0-8709). • Элюент Е (0,2 М раствор натрия гидроксида), ГОСТ 4328-77. • Реактив нингидриновый: смесь буфера R2 и раствора нингидрина R1 (1:1) (Wako Pure Chemical Industries, P/N 298-69601). 	<ul style="list-style-type: none"> • Галловая кислота, CAS 5995-86-8. • Глюкоза моногидрат, CAS 5996-10-1. • Лимонная кислота, CAS 77-92-9. • Рамноза моногидрат, CAS 10030-85-0. • Танин, CAS 1401-55-4. • Цавелевая кислота, CAS 144-62-7. • Яблочная кислота, CAS 6915-15-7.

Рисунок 6 – Характеристика используемых реактивов и стандартных веществ

2.3 Морфолого-анатомическая характеристика и выявление диагностических признаков исследуемого сырья

Экспериментальная часть работы реализована с использованием оборудования, представленного на Рисунке 7.

ИСПОЛЬЗУЕМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ



- Анализатор аминокислотный L-8800 (Hitachi, Ltd., Япония).
- Баня водяная GFL 1041 (GFL, Германия).
- Весы аналитические электронные HR-250AZ (A&D, Корея).
- Весы лабораторные ME4001 (Mettler-Toledo, Швейцария).
- Испаритель роторный, ТУ 25-1173.135-85.
- Камера хроматографическая (Camag, Швейцария).
- Колонка ионообменная Hitachi 2622SC(PH), размер 4,6 × 60 мм, P/N 855-4508.
- Колонка хроматографическая Acquity UPLC VEN C18 (2,1 × 150 мм, сорбент 1,7 мкм).
- Концентратор вакуумный центрифужный (тип SpeedVac).
- Микроскоп «ЛОМО МИКМЕД-6», ТУ 9443-168-07502348-2005 (Россия).
- Пластинки для ТСХ «Sorbfil» ПТСХ-АФ-А (10 × 15 см), ТУ 4215-002-43636866-2007.
- Пластинки для ТСХ «Sorbfil» ПТСХ-АФ-А (10 × 20 см), ТУ 4215-002-43636866-2007.
- Пульверизатор для ТСХ (диаметр корпуса 26–30 мм).
- Система жидкостной хроматографии Waters Acquity UPLC (Waters Corporation, США) в комплекте с тандемным квадрупольным масс-селективным детектором и диодно-матричным детектором (PDA/DAD).
- Спектрофотометры Specord 50 и Specord 250 (Analytik Jena AG, Германия).
- Термошейкер с охлаждением TS-100C (Biosan, Латвия / Medical-Biological Research Technologies).
- Шкаф сушильный лабораторный (с поддержкой температурного диапазона 100–110 °С).

Рисунок 7 – Характеристика, используемого оборудования

2.4 Посуда и вспомогательные материалы

Экспериментальную часть работы выполняли с применением специализированной лабораторной посуды и расходных материалов (Рисунок 8).

ИСПОЛЬЗУЕМАЯ ПОСУДА И ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ



- Бумага фильтровальная № 2, размер пор 7 мкм, диаметр 240 мм.
- Виала винтовая, объем 2 мл.
- Игла препаровальная прямая АН-1-05, ФСР 2009/05817.
- Колбы мерные на 10, 25, 50 и 100 мл, ГОСТ 1770-74.
- Кювета кварцевая, толщина слоя 1 мм («МиниМед», Россия).
- Лезвия микротомные одноразовые Feather A35 (Япония).
- Микропробирка типа «Эпшендорф», объем 1,5 мл (Aptaca, Италия).
- Микрошприц МШ-10, объем 10 мкл (РФ).
- Пинцет из нержавеющей стали, размер кончиков 0,2 × 0,6 мм.
- Пипетка мерная на 1 мл, ГОСТ 29227-91.
- Пластиковая (полимерная) пробирка с герметичной винтовой крышкой, объем 1,5 мл (SSIbio 2230-00, США).
- Сито лабораторное, диаметр отверстий 0,2 мм.
- Сито лабораторное, диаметр отверстий 5,0 мм.
- Стекло покровное 22 × 22 мм, ТУ 9464-012-52876859-2014.
- Стекло предметное 26 × 76 × 1 мм (Bio-Seen Group).
- Ступка с пестиком фарфоровая, диаметр 254 мм.
- Чашка выпарительная № 2–3, ГОСТ 9147-80.
- Чашка Петри, диаметр 55 мм.

Рисунок 8 – Характеристика, используемой посуды и вспомогательных материалов

2.5 Морфолого-анатомическая характеристика и выявление диагностических признаков исследуемого сырья

Исследование анатомо-морфологических признаков цельного ЛРС курильского чая осуществляли в соответствии с требованиями ОФС.1.5.1.0003 «Листья», ОФС.1.5.1.0004 «Цветки» (ГФ РФ XV изд.).

Макроскопический анализ объектов исследования осуществляли путем визуального осмотра при естественном освещении на белом фоне, согласно ГФ РФ XV изд. [17, 36].

Изучение анатомо-диагностических признаков выполняли, руководствуясь положениями ОФС.1.5.3.0003 (ГФ РФ XV изд.) и 2.1.8.17 (Фармакопея ЕАЭС) [17, 36, 112]. Микроскопическое изучение препаратов осуществляли на бинокулярном микроскопе «ЛОМО МИКМЕД-6». Анализ проводили при различных увеличениях, используя объективы 10х/0,25, 40х/0,65 в сочетании с окуляром 10х/20. Визуализацию и документирование результатов вели методом цифровой микрофотосъемки. Техническую коррекцию полученных снимков выполняли с применением базового программного обеспечения в среде Microsoft Windows.

2.6 Качественная идентификация основных групп биологически активных веществ в сырье курильского чая

Идентификация БАВ в исследуемых объектах осуществляли путем проведения фармакопейных и общепринятых качественных реакций [14, 29, 33, 40, 56, 64, 71, 72, 75, 76, 84, 86, 88, 98, 107, 119].

Хроматографическое разделение в тонком слое сорбента проводили в соответствии с требованиями Фармакопеи ЕАЭС (2.1.3.3.) и нормативными протоколами частных ФС, входящих в состав действующей ГФ РФ, также был осуществлен выбор оптимальных условий хроматографирования, позволяющий разделить и идентифицировать БАВ (Таблица 5).

Для хроматографического обнаружения дубильных веществ применяли пластины на алюминиевой подложке марки «Sorbfil». Разделение компонентов осуществляли в системе растворителей н-бутанол : уксусная кислота : вода (10:3:7), широко применяемой для качественной оценки сырья на содержание полифенольных компонентов [75, 98]. В качестве стандартных образцов использовали спиртовые растворы танина и кислоты галловой. Раствор галловой кислоты спиртовой, готовили растворением точной навески галловой кислоты (около 0,25 г) в 40 мл спирта этилового 70 % в мерной колбе вместимостью 50 мл, после чего доводили объем раствора спиртом этиловым 70 % до метки. Раствор танина готовили аналогичным способом: растворяли точную навеску танина (около 0,25 г) в 40 мл спирта этилового 70 % в мерной колбе емкостью 50 мл после чего выводили объем раствора спиртом этиловым 70 % до метки. Исследуемые образцы наносили в виде водно-спиртового извлечения, полученного мацерацией сырья в соотношении сырье-экстрагент 1:10. Пластины высушивали под тягой до исчезновения запаха растворителя. Детектирование осуществляли, опрыскивая пластины спиртовым раствором железоаммонийных квасцов [24, 93].

Хроматографическое разделение фракции свободных сахаров проводили в системе растворителей н-бутанол — ледяная уксусная кислота — вода (4:1:2), так как данная система была признана наиболее эффективной в исследованиях состава моносахаридов в ЛРС [105, 106]. Анализ выполняли на пластинах «Sorbfil». В качестве проявляющего реактива использовали смесь сульфаниламида и ортофталевой кислоты. В качестве стандартных образцов (СО) использовали глюкозы моногидрат (CAS 5996-10-1) и рамнозы моногидрат (CAS 10030-85-0) [93, 105].

Хроматографирование проводили в системе бутанол : уксусная кислота: вода (4:1:2), поскольку данная система была признана одной из наиболее эффективных в предыдущих исследованиях состава моносахаридов в ЛРС [93].

Для подтверждения наличия в исследуемом сырье свободных органических кислот был использован метод тонкослойной хроматографии [93].

В основу пробоподготовки легла методика, описанная в частной фармакопейной статье на плоды рябины обыкновенной (ФС.2.5.0093.18, ГФ XIV изд). Аналитическую пробу измельчали до размера частиц не более 2 мм, после чего подвергали исчерпывающему экстрагированию водой. Экстракцию органических кислот реализовали при соотношении фаз 1:10 (сырье : экстрагент) в течение часа; для предотвращения потерь экстрагента использовали обратный холодильник, поддерживая стабильный нагрев на кипящей водяной бане. В процессе нагревания колбу периодически встряхивали для смыва частиц со стенок ёмкости. После охлаждения до комнатной температуры извлечение фильтровали. Фильтраты наносили на хроматографические пластинки Пластины Sorbfil (ТУ 4215-002-43636866-2007). Идентификацию проводили с использованием 0,1 % эталонных растворов органических кислот - лимонной, щавелевой и яблочной кислот.

В качестве исходных субстанций для приготовления СО задействовали: кислоту лимонную (2-гидроксипропан-1,2,3-трикарбоновая кислота), порошкообразная субстанция с чистотой ≥ 99 % (Sigma-Aldrich, США); кислоту щавелевую (этандиовая кислота), порошок чистоты 99 %, соответствующий марке «ХЧ» (ООО «Химмед», РФ); яблочную кислоту (2-гидроксипропан-2,3-дикарбоновая кислота), квалификации «ХЧ» с массовой долей основного компонента 99 % («Химмед», РФ)» [32].

Хроматографирование осуществляли в системе растворителей 95 % спирт этиловый : аммиак концентрированный (16:4,5) восходящим способом. Выбор хроматографической системы был обусловлен анализом данных научной литературы, демонстрирующих ее эффективность [29, 94]. Время насыщения камеры составило 40 минут. Нанесение проб производили с помощью микрошприца объемом 10 мкл (МШ-10, РФ). После хроматографирования пластинки извлекали из камеры, высушивали и детектировали, опрыскивая хроматограммы 0,2 % спиртовым раствором бромкрезолового-зеленого. При значениях $pH > 7$ определяемые органические кислоты обнаруживаются в виде желтых пятен на синем фоне.

Таблица 5 – Параметры хроматографического разделения и условия детекции основных групп БАВ в тонком слое сорбента [35]

БАВ	Неподвижная фаза	Подвижная фаза	Детектор	СО
Дубильные вещества	Силикагель «Sorbfil» ПТСХ-АФ-А (10*15 см)	н-бутанол : уксусная кислота:вода (10:3:7)	Раствор железоммонийных квасцов (1 % в спирте)	Танин Галловая кислота
Полисахариды	Силикагель «Sorbfil» ПТСХ-АФ-А (10*15 см)	бутанол : уксусная кислота: вода (4:1:2)	Смесь сульфонида и ортофталевой кислоты	Глюкоза моногидрат Рамноза моногидрат
Органические кислоты	Силикагель «Sorbfil» ПТСХ-АФ-А (10*20 см)	95 % спирт этиловый : аммиак концентрированный (16:4,5) восходящим способом	Раствор бромкрезолового зеленого (0,2 % в спирте)	Галловая кислота

2.7 Оценка содержания и нормирование биологически активных соединений в сырье курильского чая

2.7.1 Полифенольные соединения

Количественную оценку суммарного содержания фенольных соединений осуществляли с использованием метода Фолина-Чокальтеу, являющегося общепринятым стандартом при изучении растительных объектов.

Для проведения анализа точную навеску 1 г предварительно измельченного и просеянного сырья курильского чая внесли в колбу и добавили 50 мл 70 % раствор ацетона (ацетон ТУ 6-09-3513-82 и вода очищенная в соотношении 7: 3). Процесс извлечения осуществляли в центрифуге в течение одного часа. Полученный экстракт пропускали через бумажный фильтр в мерную колбу на 50 мл, доводя содержимое до метки тем же экстрагентом (раствор А).

Для определения оптической плотности в мерную колбу вместимостью 10 мл помещали 0,3 мл раствора А. Далее в колбу вводили 2 мл воды, 0,25 мл реактива Фолина-Чокальтеу и 1,25 мл 20 % натрия карбоната, доводя общий объем водой до метки. Полученную смесь выдерживали в защищенном от света месте в течение 40 минут. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при длине волны 750 нм в кварцевых кюветах ($\lambda = 1$ см). В качестве контрольного опыта использовали смесь всех реактивов, в которой исследуемый раствор был заменен соответствующим количеством растворителя [104].

Для построения градуировочного графика готовили стандартный раствор Б: 0,05 г СО танина переносили в мерную колбу объемом 100 мл, растворяли в 50 мл очищенной воды и доводили до метки тем же растворителем.

Серию стандартных образцов готовили путем переноса 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 и 0,5 мл рабочего раствора Б в мерные колбы вместимостью 10 мл. К пробам добавляли воду (2 мл), реактив Фолина-Чокальтеу (0,25 мл) и 20 % раствор натрия карбоната (1,25 мл) и доводили до метки водой и оставляли в защищенном от света месте в течение 40 минут. После измеряли оптическую плотность при $\lambda = 750$ нм.

Количественное определение суммы полифенолов в побегах курильского чая (%) проводили в пересчете танина и абсолютно сухой массы сырья.

$$X = \frac{c \cdot F}{a} \cdot \frac{100}{100 - b} \cdot 100$$

где, c – содержание полифенольных веществ в исследуемом растворе, найденное по градуировочному графику, мкг/мл;

a – навеска сырья, г;

F – фактор разведения;

b – потеря в массе при высушивании, %.

2.7.2 Дубильные вещества

Количественное определение содержания танинов проводили, руководствуясь регламентом ОФС.1.5.3.0008.15 [17]. Характеристика метода

приведена в Таблице 6. Статистическую обработку проводили стандартными методами [22, 69].

Таблица 6 – Условия титриметрического определения содержания дубильных веществ в побегах, листьях и цветках *Potentilla fruticosa* (L.)

Аналитический метод	Перманганатометрия
Титрант	KMnO ₄ 0,02 М
Индикатор	Индигосульфоокислота
Результат	Золотисто-жёлтое окрашивание
Расчетная формула для вычисления процентного содержания дубильных веществ	$X = \frac{(V - V_1) * 0,004157 * 250 * 100 * 100}{a * 25 * (100 - W)}$ <p> V — количество 0,02 М KMnO₄, израсходованное на титрование, мл; V₁ — количество того же раствора, затраченное в контрольном эксперименте, мл; 0,004157 — теоретический фактор пересчета для 0,02 М KMnO₄ по танину (г/мл); a — точная навеска исходного растительного материала, г; W — влажность, %; 250 — суммарный объем полученного извлечения, мл; 25 — аликвота, отобранная для анализа, мл. </p>

2.7.3 Полисахариды

В основу определения количественного содержания водорастворимого полисахаридного комплекса была взята аналитическая процедура, регламентированная ФС.2.5.0032.15 (ГФ РФ XV изд.) [17]. Ключевые параметры анализа представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – Характеристики методики определения полисахаридов

Аналитический метод	Весовой (гравиметрический) метод
Осадитель	Этиловый спирт 96 %
Расчет процентного выхода полисахаридов в пересчете на массу сухого остатка	$X = \frac{(m_2 - m_1) * 500 * 100 * 100}{a * 25 * (100 - W)}$ <p> m_1 - масса фильтра, г; m_2 - масса фильтра с высушенным осадком, г; a – масса навески, г; W - влажность в исследуемом сырье, % </p>

2.7.4 Органические кислоты

Количественную оценку содержания суммы свободных органических кислот в цветках, листьях и побегах курильского чая осуществляли согласно фармакопейной методике ФС.2.5.0093.18 (ГФ XIV изд.) [16]. Характеристика метода приведена в Таблице 8.

Таблица 8 – Условия титриметрического определения содержания суммы свободных органических кислот в сырье *Potentilla fruticosa* (L.)

Аналитический метод	Алкалиметрическое титрование
Титрант	NaOH 0,1 М
Индикатор	0,1 % раствор метиленового синего (C ₁₆ H ₁₈ ClN ₃ S) и 1 % спиртовой раствор фенолфталеина (C ₂₀ H ₁₄ O ₄ +C ₂ H ₅ OH)
Результат	Фиолетово-синие окрашивание
Расчетная формула для вычисления процентного содержания суммы свободных органических кислот	$X = \frac{V * 0,0067 * 250 * 100 * 100}{a * 10 * (100 - W)}$ <p> V — объем титранта 0,1 М NaOH, мл 0,0067 — коэффициент пересчета яблочной кислоты a — масса навески, г W — влажность, % </p>

2.7.5 Экстрактивные вещества

Оценку выхода экстрактивных веществ в исследуемых объектах проводили, руководствуясь методологическими указаниями ОФС.1.5.3.0006.15. Данный подход позволил установить массовую долю растворимых компонентов в строгом соответствии с требованиями актуальной ГФ РФ XV изд. [17]. Характеристика методики определения экстрактивных веществ представлена в Таблице 9.

Таблица 9 – Метрологические характеристики методики определения экстрактивных веществ [104]

Аналитический метод	Весовой (гравиметрический) метод
Экстрагент	Вода, этанол, ацетонитрил, хлороформ, гексан
Расчетная формула для вычисления процентного содержания экстрактивных веществ	$X = \frac{m * 100 * 100 * V}{a * (100 - W) * 25}$ <p> <i>m</i> - вес полученного сухого остатка после высушивания аликвоты, г <i>a</i> - точная масса сырья, г <i>V</i> - количество экстрагента, мл <i>W</i> - влажность, % </p>

2.8 Анализ аминокислотного состава образцов лапчатки кустарниковой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с постколоночной дериватизацией

Изучение профиля аминокислот в исследуемых объектах осуществляли, руководствуясь положениями с ОФС.1.2.1.0025.18 «Общая фармакопейная статья. Аминокислотный анализ» и 2.1.2.40. «Аминокислотный анализ» (Фармакопея ЕАЭС). Для гидролиза был выбран МЕТОД 3 (оптимизированный), а для разделения - МЕТОД 1. Пост-колоночная дериватизация с нингидрином [16, 112, 167, 178].

Образцы лапчатки кустарниковой (курильского чая) — *Potentilla fruticosa* (L.) были высушены при 37 °С с помощью центрифужного испарителя до постоянного веса, представленного в Таблице 10.

Таблица 10 – Пробоподготовка *Potentilla fruticosa* (L.)

№	Образец	Масса пробирки, г	Масса пробирки с образцом, г	Масса пробирки с образцом после высушивания, г	Масса образца до высушивания, мг	Масса образца после высушивания, мг	Влажность, %
1	Цветки	1.1047	1.1511	1.1179	46.4	13.2	71.55 %
2	Листья	1.1015	1.1592	1.1495	57.7	48	16.81 %
3	Побеги	1.0962	1.1979	1.1772	101.7	81	20.35 %

Подготовку биоматериала начинали с криогенной фиксации в жидком азоте с последующим механическим истиранием в фарфоровой ступке до гомогенного состояния. Для проведения кислотного гидролиза в специализированную ампулу помещали точную навеску сухого гомогената массой около 3 мг, после чего вносили 200 мкл соответствующей гидролизующей смеси. По завершении гидролиза содержимое реакционного сосуда переносили в микропробирку типа Eppendorf (1,5 мл) и подвергали сушке на роторном испарителе. Сухой остаток растворяли в 1000 мкл 0,02 Н раствора соляной кислоты; после центрифугирования надосадочную жидкость (супернатант) отбирали в вials для последующего хроматографического анализа.

Анализ контрольных и опытных образцов проводили в идентичных условиях на автоматизированной системе L-8800 (Hitachi, Ltd.). Разделение компонентов осуществляли на стальной ионообменной колонке Hitachi 2622SC(PH) размером 4,6*60 мм (P/N 855-4508). В ходе работы поддерживались следующие режимные параметры:

- термостатирование колонки при 57 °С;
- подача подвижной фазы со скоростью 0,4 мл/мин;

– инъектируемый объем: 50 мкл для эталонных смесей и от 25 до 100 мкл для исследуемых гидролизатов;

– система элюирования: ступенчатый градиент элюентов с последовательным использованием буферных растворов А, В, С, D и Е.

Для постколоночной дериватизации использовали Нингидриновый буфер R2 и раствор нингидрина R1 (1:1) (Wako Pure Chemical Industries, P/N 298-69601). Процесс постколоночной дериватизации осуществляли при следующих параметрах: подача реагента со скоростью 0,35 мл/мин и температуре термостата реактора 136 °С [32]. Детектирование продуктов реакции проводили при $\lambda=570$ нм (основной канал) и $\lambda=440$ нм (специфично для определения пролина).

Рабочий раствор готовим путем разбавления 32 мкл исходной смеси аминокислот (каждой по 2,5 мМ; кроме цистина — 1,25 мМ) в 968 мкл 0,02 М HCl в пластиковой пробирке. Полученная концентрация соответствует 4 нмоль (2 нмоль для цистина) на каждые 50 мкл объема. Состав подлежит использованию в течение 30 дней при соблюдении температурного режима -20 °С.

Режим элюирования - ступенчатый градиент элюентов А, В, С, D и Е, представлен в Таблице 11.

Таблица 11 – Режим элюирования

Время, мин	Элюент А, %	Элюент В, %	Элюент С, %	Элюент D, %	Элюент Е, %
0	100	0	0	0	0
3	100	0	0	0	0
3.1	0	100	0	0	0
4.5	0	100	0	0	0
4.6	0	0	100	0	0
14.3	0	0	100	0	0
14.4	0	0	0	100	0
27	0	0	0	100	0
27.1	0	0	0	0	100
31	0	0	0	0	100
31.1	0	100	0	0	0
32	0	100	0	0	0

Продолжение Таблицы 11

32.1	100	0	0	0	0
42	100	0	0	0	0

Идентификация пиков и количественное определение аминокислот в анализируемой пробе (в нмоль) выполняются программным обеспечением в автоматическом режиме на основе калибровочных данных стандартных смесей. Расчет содержания соответствующей аминокислоты (%) в исследуемых образцах производили по формуле [32]:

$$C_i = \frac{N_i \times 100 \times MW_i}{m_s \times V \times 1000} = \frac{N_i \times MW_i}{m_s \times V \times 10},$$

Где,

N_i – содержание соответствующей аминокислоты в испытуемом растворе, нмоль/пробу

MW_i - относительная молекулярная масса соответствующего соединения;

m_s - масса пробы, взятая для проведения гидролиза, мг;

V - дозируемый объем испытуемого раствора (от 25 до 100 мкл).

2.9 Анализ образцов лапчатки кустарниковой методом жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии

Образцы лапчатки кустарниковой (курильского чая) были высушены при 37 °С с помощью центрифужного испарителя типа (Speed Vac) до постоянного веса (Таблица 10).

Точную навеску анализируемого материала - 20 мг помещали в полимерную пробирку объемом 1,5 мл с герметичной винтовой крышкой (SSIbio 2230-00). Экстракцию проводили 70 % этиловым спиртом в объеме 1 мл. После первичной гомогенизации на вортексе образцы подвергали термостатированию в термошейкере (1000 об/мин, температуре 100 °С) в течение 30 минут, с последующей ультразвуковой обработкой (1,5 часа при 50 °С). Для отделения

твердой фазы смесь центрифугировали (14000 об/мин) в течение получаса; полученный супернатант декантировали в хроматографическую виалу.

Инструментальный анализ образцов осуществляли методом ультраэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии на хроматографической системе Waters Acquility, оснащенной диодно-матричным и tandemным квадрупольным масс-селективным детектором (TQD, Waters). В качестве компонентов элюирующей системы применяли:

Подвижная фаза А (ПФ А): водно-ацетонитрильную смесь (95 : 5) с 20 мМ муравьиной кислоты.

Подвижная фаза В (ПФ В). ацетонитрил с добавлением 20 мМ муравьиной кислоты.

Условия хроматографического разделения на колонке Acquility UPLC VEN C18 (0,21 x 15,0 см, сорбент 1,7 мкм): объем инжестируемой пробы 2, 5 мкл; изотермический режим термостата 35 °С; скорость потока 0,25 мл/мин. Профилирование градиента подвижных фаз А и В реализовано согласно схеме, представленной в Таблице 12.

Таблица 12 – Программа градиентного элюирования в системе сверхэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Время, мин	ПФ А, %	ПФ В, %
0	100	0
30	50	50
32	0	100
33	100	0
36	100	0

Спектрофотометрическое детектирование осуществляли в диапазоне длин волн 220–500 нм.

Масс-спектрометрическое детектирование реализовано в режимах регистрации положительно и отрицательно заряженных ионов при следующих установках:

Режим ионизации (+): потенциал на капиллярном электроде +3 кВ, конусное напряжение 50 В, температура десольватации (капилляра) поддерживалась на уровне 450 °С, а источника на 120 °С. Расход осушающего газа и газа в конусе составил 800 л/ч и 50 л/ч соответственно.

Режим ионизации (-): потенциал на капиллярном электроде -3 кВ; напряжение экстрактора (конуса) — минус 30 В, термический режим капилляра снижен до 350 °С при сохранении температуры источника 120 °С.

Для обоих режимов масс-спектральное окно было установлено в пределах от 100 до 1500 ед.

2.10 Разработка и экспериментальное обоснование числовых показателей качества побегов курильского чая

Определение числовых показателей побегов курильского чая осуществляли в строгом соответствии с требованиями ГФ РФ XV изд. и Фармакопеи ЕАЭС. Определение влажности проводили согласно ОФС 1.5.3.0007, анализ золы и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте выполняли по регламентам ОФС 1.2.2.2.0013; 2.1.4.16 и ОФС 1.5.3.0005; 2.1.8.1. соответственно, а оценку чистоты и степени измельченности по методике ОФС 1.5.3.0004 и 2.1.8.2. [17, 112].

2.11 Водные извлечения

Извлечение готовили в соответствии с ОФС.1.4.1.0018 «Настои и отвары». Количественную оценку содержания дубильных веществ проводили в соответствии со статьей ОФС.1.5.3.0008.18. Определение сухого остатка осуществляли по методике ОФС 1.4.1.0018.18 «Настои и отвары» [17, 112].

2.12 Оценка антимикробного потенциала и фунгистатического действия извлечений из курильского чая

Верификацию антимикробного и фунгистатического действия *in vitro* осуществляли методом диффузии в агар, руководствуясь регламентом ОФС.1.2.4.0010.15 (ГФ РФ XV изд.) и 2.3.1. (Фармакопея ЕАЭС) [14, 112]. В качестве тест-объектов использовали эталонные штаммы грамположительных (*Staphylococcus aureus* 209-*P*) и грамотрицательных (*Escherichia coli* ATCC 25922) бактерий, а также дрожжеподобные грибы *Candida albicans* ATCC 10231. Статистическую верификацию и математическую обработку первичных данных выполняли в программной среде Microsoft Excel 2019, опираясь на требования ОФС.1.1.0013.15.

ГЛАВА 3. МАКРОСКОПИЧЕСКИЙ И МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОБЕГОВ, ЛИСТЬЕВ И ЦВЕТКОВ КУРИЛЬСКОГО ЧАЯ

Морфолого-анатомическая идентификация сырья, отвечающая требованиям действующей фармакопеи XV издания и Фармакопеи ЕАЭС, включает многоуровневый анализ внешних признаков и микроскопическое изучение цельных, измельченных и порошкованных образцов [63, 95, 104].

3.1 Морфологическая характеристика и установление диагностических признаков цельного и измельченного сырья

Внешние признаки цельных морфологических групп *Potentilla fruticosa* (L.), включающих побеги, листья и цветки, наглядно представлены на Рисунке 9. Подробная фармакогностическая характеристика каждой группы органов приведена в соответствующих таблицах: описание листьев содержится в Таблице 13, цветков — в Таблице 14, стеблей — в Таблице 15.



Рисунок 9 – Внешний вид высушенных частей *Potentilla fruticosa* (L.):
А – побеги; Б – листья; В – цветки

Таблица 13 – Внешние признаки листьев *Potentilla fruticosa* (L.) [131]

Диагностический признак	Характеристика признака	Метод определения
Строение листа	Отдельные листочки сложного непарноперистого листа (3 - сидячие и 2 – отдельные)	Визуально
Размеры листовой пластинки	Длина: 5-30 мм Ширина: 1-10 мм	При помощи линейки
Форма листовой пластинки	Ланцетоовальные, заостренные к верхушке, наиболее широкие в средней части и у основания	Визуально
Характер основания	Округлый	Визуально
Характер края листа	Цельнокрайний	Визуально
Наличие черешка, его размеры	Есть короткий черешок	Визуально, при помощи линейки
Наличие влагалища, прилистников	Имеются пленчатые, сросшиеся с черешком прилистники	Визуально
Опушение листа и черешка	Опушен	Визуально
Жилкование листа	Перистое	Визуально
Цвет	Верхняя сторона листа – темно-зеленые, нижняя сторона листа – серовато-зеленые	Визуально
Запах	Смолистый	При растирании между пальцами
Вкус	Освежающий, с легкой горчинкой и сладостью	При разжёвывании, не проглатывая

Таблица 14 – Внешние признаки цветков *Potentilla fruticosa* (L.)

Диагностический признак	Характеристика признака	Метод определения
Тип соцветия	Цветки одиночные или собраны в небольшие, малоцветковые верхушечные зонтиковидные или щитковидные соцветия	Визуально
Строение околоцветника	Двойной околоцветник	Визуально
Строение (тип цветков, цветоложе)	Тип цветка: однодомный или раздельнополый Цветоложе: немного вдавленное (иногда в виде чашечки)	Визуально

Продолжение Таблицы 14

Строение чашечки и венчика	Двойная (двухрядная) чашечка. Чашечка состоит из 5 ланцетных чашелистиков и 5 дополнительных листочков подчашия. Венчик раздельнолепестной, состоящий из 5 округлых лепестков.	Визуально
Число пестиков	Множество пестиков с лопастными рыльцами	Визуально
Число и строение тычинок	Тычинок множество	Визуально
Размеры	4 – 8 мм	По линейке
Цвет	Венчик ярко-желтый, чашечка зеленая	Визуально
Запах	Ароматный	При растирании между пальцами
Вкус	Освежающий, с легкой горчинкой и сладостью	При разжёвывании, не проглатывая

Таблица 15 – Внешние признаки цельных побегов *Potentilla fruticosa* (L.)

Диагностический признак	Характеристика признака	Метод определения
Характер ветвления	Ветвистый	Визуально
Форма поперечного сечения	Округлая	Визуально
Характер поверхности	Гладкая или слегка ребристая	Визуально
Листорасположение	Очередное	Визуально
Расположение цветков	Цветки одиночные на верхушках ветвей	Визуально
Строение листа	Отдельные листочки сложного непарноперистого листа (3 - сидячие и 2 – отдельные)	Визуально
Размеры листовой пластинки	Длина: 5-30 мм Ширина: 1-10 мм	При помощи линейки
Форма листовой пластинки	Ланцетоовальные, заостренные к верхушке, наиболее широкие в средней части и у основания	Визуально
Характер основания	Округлый	Визуально
Характер края листа	Цельнокрайний	Визуально

Продолжение Таблицы 15

Наличие черешка, его размеры	Есть короткий черешок	Визуально, при помощи линейки
Наличие влагалища, прилистников	Имеются пленчатые, сросшиеся с черешком прилистники	Визуально
Опушение листа и черешка	Опушен	Визуально
Жилкование листа	Перистое	Визуально
Цвет	Верхняя сторона листа – темно-зеленые, нижняя сторона листа – серовато-зеленые	Визуально
Тип соцветия	Цветки одиночные или собраны в небольшие, малоцветковые верхушечные зонтиковидные или щитковидные соцветия	Визуально
Строение околоцветника	Двойной околоцветник	Визуально
Строение чашечки и венчика	Двойная (двухрядная) чашечка. Чашечка состоит из 5 ланцетных чашелистиков и 5 дополнительных листочков подчашия. Венчик раздельнолепестной, состоящий из 5 округлых лепестков.	Визуально
Число пестиков	Множество пестиков с лопастными рыльцами	Визуально
Число и строение тычинок	Тычинок множество	Визуально
Размеры	4 – 8 мм	По линейке
Строение (тип цветков, цветоложе)	Тип цветка: однодомный или раздельнополый Цветоложе: немного вдавленное (иногда в виде чашечки)	Визуально
Цвет	Венчик ярко-желтый, чашечка зеленая	Визуально
Запах	Смолистый	При растирании между пальцами
Вкус	Освежающий, с легкой горчинкой и сладостью	При разжёвывании, не проглатывая

Измельченные побеги (Рисунок 10, А). Смесь кусочков листочков, черешков, стеблей, лепестков, чашелистиков различной формы проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5,0 мм. При рассмотрении измельченного сырья под лупой (10х) должны быть видны фрагменты густоопушенной листовой пластинки сверху и менее опушенной снизу, верхняя поверхность темно-зеленого цвета, нижняя светло-зеленого, зеленого или серовато-зеленого цвета. Кусочки черешков и стеблей распадаются на крошечные цилиндрические сегменты с прижатыми шелковистыми волосками, цвет от светло-зеленого до желтовато-бурого. Элементы цветков представляют собой фрагменты лепестков желтого или соломенного цвета; кусочки плотных серовато-зеленых чашелистиков, густо покрытых снаружи длинными шелковистыми волосками; многочисленные мелкие нитевидные тычинки с округлыми сморщенными пыльниками.

Порошок (Рисунок 10, Б). Смесь частиц листочков, черешков, стеблей и элементов цветков, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2,0 мм. Характеристика признака измельченных побегов и порошка описана в Таблице 16.



А



Б

Рисунок 10 – Внешний вид побегов. Измельченное сырье (А) и порошок (Б)

Таблица 16 – Внешние признаки измельченного сырья и порошка побегов *Potentilla fruticosa* (L.) [36]

Диагностический признак	Характеристика признака		Метод определения
	Измельченные побеги	Порошок	
Форма кусочков сырья	Смесь кусочков листочков, черешков, стеблей, лепестков, чашелистиков различной формы	Смесь мелких бесформенных кусочков листочков, черешков, стеблей, лепестков и чашелистиков	Визуально
Размеры	Кусочки, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 5 мм	Кусочки, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 0,2 мм	С помощью сито
Цвет	Светло-зеленый, зеленый и серовато-зеленый	Светло-зеленый или зелено-желтоватого цвета	Визуально
Запах	Ароматный		При растирании
Вкус	Освежающий, с легкой горчинкой и сладостью		Водное извлечение

3.2 Изучение анатомо-диагностических признаков

В ходе проведения микроскопического анализа с целью установления анатомо-диагностических признаков для побегов, листьев и цветков лапчатки кустарниковой готовились препараты:

1. Поперечный срез полуодревесневшего стебля
2. Препарат листа с поверхности
3. Препарат чашелистика с поверхности
4. Препарат лепестка с поверхности.

Анатомическое строение полуодревесневших стеблей *Potentilla fruticosa* (L.) (Рисунок 11) изучали на поперечном срезе. Форма поперечных срезов в очертании округлая. На срезе видны: коровая часть, древесина, сердцевина.

Покровная ткань представлена перидермой (пробкой), состоящей из нескольких слоев уплощенных клеток (Рисунок 11, А). Линия камбия хорошо заметна, коровая часть достаточно узкая, древесина видна в виде кольца. В

древесине отчетливо выражены сосуды и механические элементы, а также однорядные сердцевинные лучи. Сердцевина представлена рыхлой паренхимой, в которой идентифицированы включения в виде друз оксалата кальция (Рисунок 11, Б).

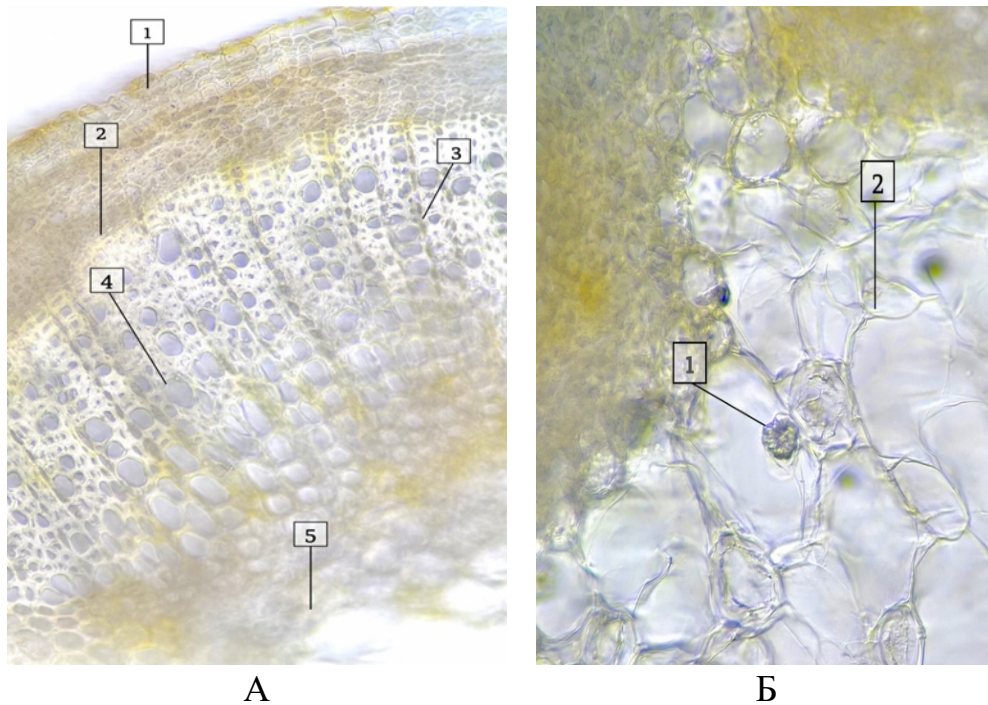
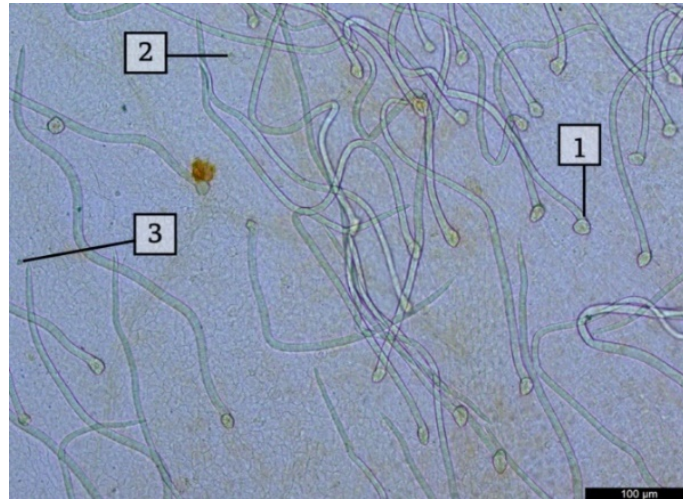


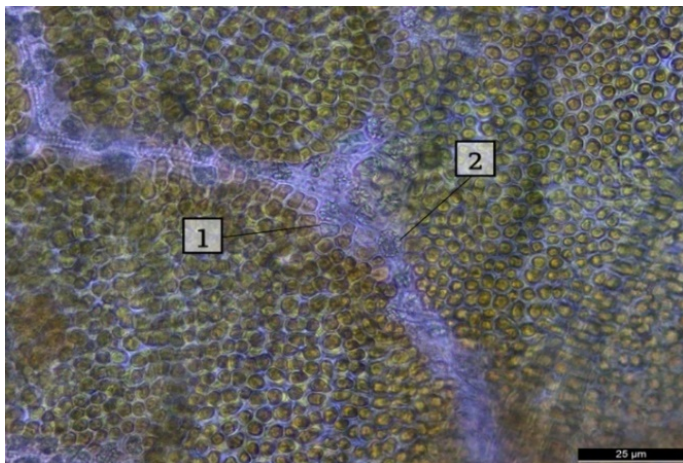
Рисунок 11 – Поперечный срез одревесневшего стебля (объектив10х):
 А – Общий вид: 1 – пробка, 2 – камбий, 3 – лучи, 4 – сосуды, 5 сердцевина;
 Б – Фрагмент сердцевины: 1 – друзы оксалата кальция, 2 – паренхимные клетки сердцевины

При изучении микропрепарата листа с поверхности (Рисунок 12) идентифицированы эпидермальные клетки полигональной формы с прямыми стенками. Клетки нижнего эпидермиса отличаются слабой извилистостью контуров. Устьица овальной формы, локализованы преимущественно на нижней стороне листовой пластинки, замыкающие клетки окружены основными эпидермальными клетками, не отличающимися по форме и величине, что характеризует аномоцитный тип устьичного комплекса. Листья густоопушены с верхней и нижней стороны простыми, одноклеточными, толстостенными волосками с заостренной верхушкой и расширенным основанием длиной до 300 мкм. Также, преимущественно с нижней стороны листа имеются головчатые

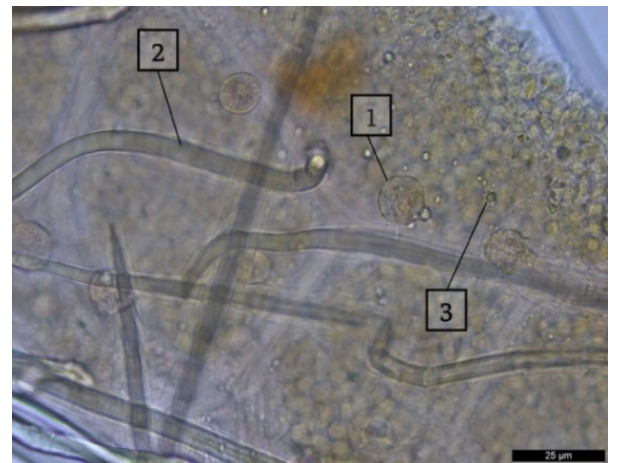
(железистые) волоски на одноклеточной, короткой ножке с округлой, многоклеточной головкой. В мезофилле листа присутствуют включения оксалата кальция. Основная их масса представлена друзами, однако встречаются и единичные кристаллы кубической или ромбической формы, а также их сrostки.



А



Б



В

Рисунок 12 – Анатомическое строение листа: А – Фрагмент листа (объектив 4х):
 1 – простой волосок с округлым основанием, 2 – головчатый волосок,
 3 – кристаллы оксалата кальция; Б – Фрагмент листа (объектив 10х):
 1 – кристаллы оксалата кальция, 2 – друзы оксалата кальция. В - Фрагмент листа
 (объектив 10х): 1 – головчатый волосок на ножке, 2 – простой волосок с округлым
 основанием, 3 – кристаллы оксалата кальция

Микроскопическое исследование цветка *Potentilla fruticosa* (L.) осуществляли путем отдельного анализа элементов околоцветника — чашечки и венчика.

При рассмотрении микропрепарата чашелистика с поверхности (Рисунок 13) идентифицированы прямостенные клетки эпидермиса, устьичный аппарат имеет аномоцитное строение и локализован главным образом на нижней стороне. Чашелистики густо опушены с обеих сторон простыми одноклеточными толстостенными волосками, которые характеризуются слабоизвилистым (волнистым) стержнем, заостренной верхушкой и расширенным основанием. Кроме того, на нижней стороне обнаруживаются головчатые волоски, состоящие из короткой одноклеточной ножки и округлой многоклеточной головки. Обнаружены кубические друзы оксалата кальция [111].

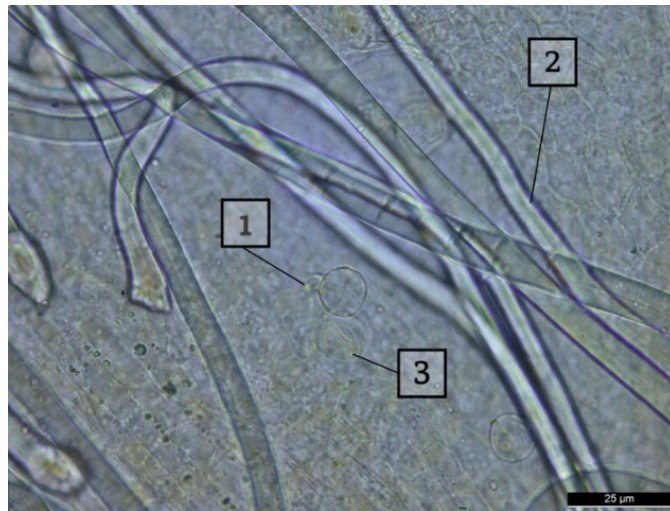
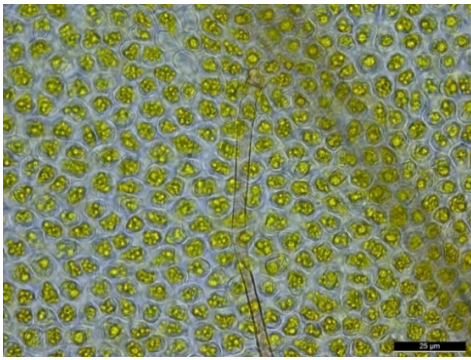
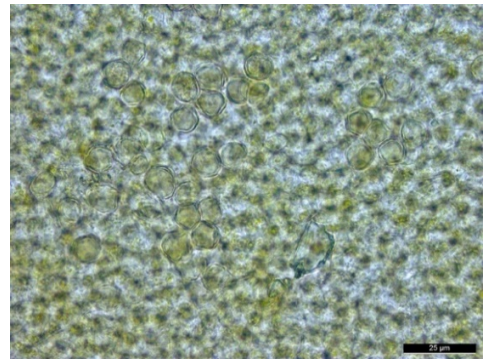


Рисунок 13 – Строение чашелистика (объектив 10х): 1– головчатый волосок, 2 – простой волосок, 3 – устьице

При рассмотрении анатомических признаков лепестка венчика установлено, что эпидермис верхней (внутренней) стороны лепестка (Рисунок 14) представлен мелкими полигональными клетками, каждая из которых имеет сосочковидные выросты. На поверхности органа также верифицируются свободные округлые пыльцевые зерна с гладкой поверхностью. Мезофилл лепестков включает многочисленные хромопласты, содержащие пигменты каротиноидного комплекса в виде капель и глыбок оранжевого цвета. Очень редко встречаются единичные, простые гигантские волоски с тонкими стенками, часто перекрученные [111].



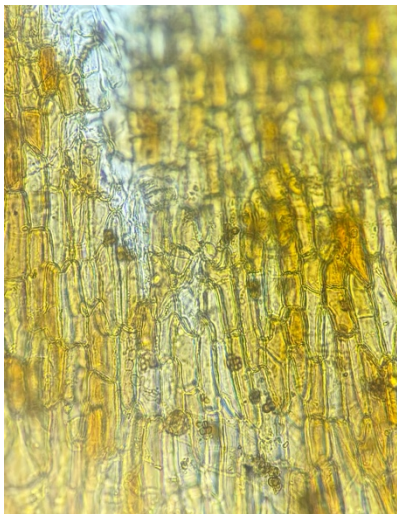
А



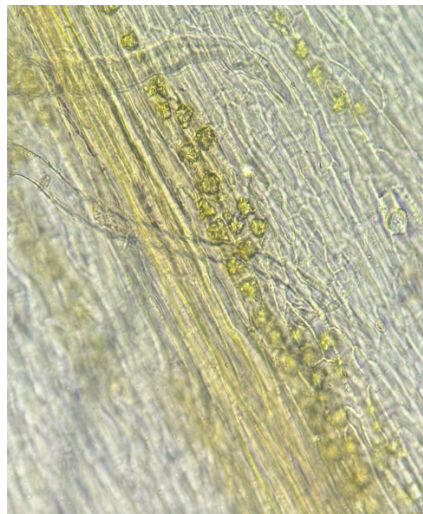
Б

Рисунок 14 – Строение лепестка (объектив 10х): А – Простой, тонкостенный волосок; Б – Пыльцевые зерна

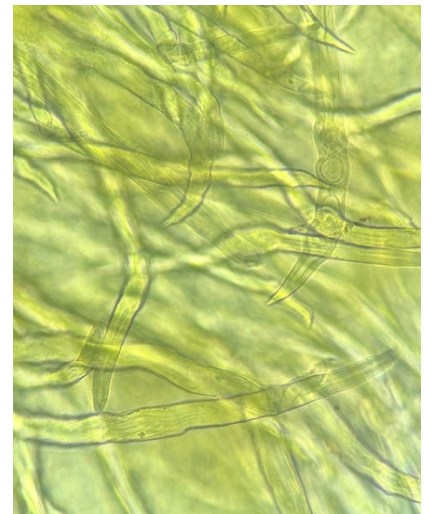
Анатомическое строение измельченных побегов *Potentilla fruticosa* (L.) изучали в «давленом» микропрепарате (Рисунок 15). В результате исследования были обнаружены отдельные клетки паренхимы, устьица, сферокристаллы и простые волоски.



А



Б



В

Рисунок 15 – «Давленный» микропрепарат побегов (объектив 10х):
А и Б – Сегменты стеблевой части; В - Фрагмент листа

Проведенная микроскопическая идентификация обеспечила установление диагностического профиля *Potentilla fruticosa* (L.). Стабильными признаками для всех морфологических групп сырья являются наличие простых волосков, а также локализованные в паренхиме микрокристаллы и друзы оксалата кальция, выступающие надежными критериями аутентичности объекта. Полученные

результаты анализа коррелируют с имеющимися литературными данными, подтверждая типичные признаки для сырья курильского чая [61].

3.3 Выводы к Главе 3

1. Охарактеризован внешний вид цельного и измельченного сырья курильского чая. В результате макроскопического анализа были идентифицированы признаки внешнего вида побегов, листьев и цветков курильского чая, с выделением характерных признаков. Установлено, что листья характеризуется непарноперистосложными густоопушенными листьями, состоящими преимущественно из 5 листочков, три верхних из которых являются сидячими. Выявлены характерные пленчатые прилистники, сросшиеся с коротким черешком. Для цветка определен двойной актиноморфный околоцветник. Чашечка является двухрядной, состоящей из 5 ланцетных чашелистиков и 5 чередующихся элементов подчашия. Венчик строго раздельнолепестный, образован 5 свободными округлыми лепестками ярко-желтого цвета. Побеги тонкие, округлые в поперечном сечении. Измельченное сырье представляет собой гетерогенную смесь кусочков листочков, черешков, стеблей, лепестков, чашелистиков различной формы проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5,0 мм. Порошкообразная форма характеризуется более высокой степенью дисперсности и однородности, состоящей преимущественно из мелкодисперсных бесформенных частиц разрушенных листовых пластинок и черешков, полностью проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 0,25 мм.

2. Установлены ключевые диагностические характеристики микроскопического строения надземных органов *Potentilla fruticosa* (L.): форма эпидермальных клеток, устьица аномоцитного типа, простые и головчатые волоски, наличие включений оксалата кальция в виде друз и кристаллов. Подтверждена достоверность использования данных анатомических маркеров для верификации подлинности и идентификации сырья как в измельченном, так и в порошкообразном виде.

ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

4.1 Качественный анализ и системная оценка содержания различных групп биологически активных веществ

Идентификацию БАВ в сырье курильского чая проводили с помощью качественных цветных реакций (Таблица 17) и методом ТСХ.

Таблица 17 – Характеристика аналитических эффектов качественных химических реакций на компоненты *Potentilla fruticosa* (L.)

Определяемая группа БАВ	Проводимая качественная реакция	Ожидаемый результат	Ожидаемый результат			Источник литературы
Дубильные вещества	Раствор железо-аммонийных квасцов	Фиолетовое окрашивание, при стоянии переходящее в черно-зеленое	+	+	+	[51, 69]
	Раствор антипирина	Осадок светло-серого цвета	+	+	+	[51, 69]
	Раствор желатины	Образование мути голубоватого цвета, исчезающей при добавлении избытка реактива	+	+	+	[51, 64, 69]
Дубильные вещества	Раствор брома в воде	Творожистый белый осадок	+	+	+	[34, 69]
Флавоноиды	Концентрированная соляная кислота и порошок магния (цианидиновая проба)	Красноватое окрашивание	+	+	+	[2, 51, 69, 91]
	Раствор антипирина	Осадок светло-серого цвета	+	+	+	[34, 91]
	Раствор брома в воде	Творожистый белый осадок	+	+	+	[34, 91]

Продолжение Таблицы 17

	Раствор желатины	Появление голубоватой мути, устраняемой путем добавления дополнительного объема рабочего раствора	+	+	+	[34, 91]
Сапонины	Реакция пенообразования в кислой и щелочной среде	Образование пены, равной по объему и стойкости	+	+	+	[18, 19, 78, 97, 114]
	Реакция с раствором свинца ацетата	Образование желтовато-бежевого творожистого осадка	+	+	+	[18, 31]
	Реакция Лафона	Образование зеленого осадка	+	+	+	[19, 45, 97]
	Реакция со спиртовым раствором холестерина 1%	Образование коричневатого осадка	+	+	+	[97]
Гидрокси- и аминокислоты (без нагревания)	Реакция со свежесосажденным гидроксидом меди(II)	С образованием раствора окрашенного в сине-зеленый цвет (цветки), листья и побеги – темно-зеленый	+	+	+	[73]
Свободные сахара со способностью к восстановлению (при нагреве)	Реакция со свежесосажденным гидроксидом меди(II)	Образование кирпично-красного осадка оксида меди(I)	+	+	+	[73]

Результаты специфических тестов на азотсодержащие основания (алкалоиды) оказались отрицательными для всех морфологических групп сырья.

4.1.1 Тонкослойная хроматография на дубильные вещества

На пластинках обнаруживались пятна черно-синего цвета (Рисунок 16 -- побеги, Рисунок 17 – цветки, Рисунок 18 -- листья), соответствующие по величине R_f стандартным образцам танина и галловой кислоты. Результаты представлены в Таблице 18.

Таблица 18 – Результаты ТСХ-анализа дубильных веществ в сырье *Potentilla fruticosa* (L.) [93]

Исследуемый образец	Фаза вегетации	Окраска пятен на хроматограмме	Значение R_f образцов	Значение R_f СО	Название СО
Побеги	Начало бутонизации	Черно-синяя	0,23	0,38	Танин
			0,32		
			0,39	0,71	Галловая кислота
			0,71		
	Бутонизация	Черно-синяя	0,21	0,38	Танин
			0,34		
			0,40	0,71	Галловая кислота
			0,70		
	Цветение	Черно-синяя	0,20	0,38	Танин
			0,31		
			0,36	0,71	Галловая кислота
			0,72		
Плодоношение	Черно-синяя	0,19	0,38	Танин	
		0,30			
		0,29	0,71	Галловая кислота	
		0,72			
Цветки	Бутонизация	Черно-синяя	0,23	0,38	Танин
			0,34		
			0,37	0,71	Галловая кислота
			0,72		
	Цветение	Черно-синяя	0,20	0,38	Танин
			0,34		
			0,38	0,71	Галловая кислота
			0,71		

Продолжение Таблицы 18

Листья	Начало бутонизации	Черно- синяя	0,23	0,38	Танин
			0,30		0,71
			0,39		
			0,70		
	Бутонизация	Черно- синяя	0,23	0,38	Танин
			0,32		0,71
			0,39		
			0,71		
	Цветение	Черно- синяя	0,25	0,38	Танин
			0,31		0,71
			0,38		
			0,72		
Плодоношение	Черно- синяя	0,20	0,38	Танин	
		0,31		0,71	Галловая кислота
		0,35			
		0,70			

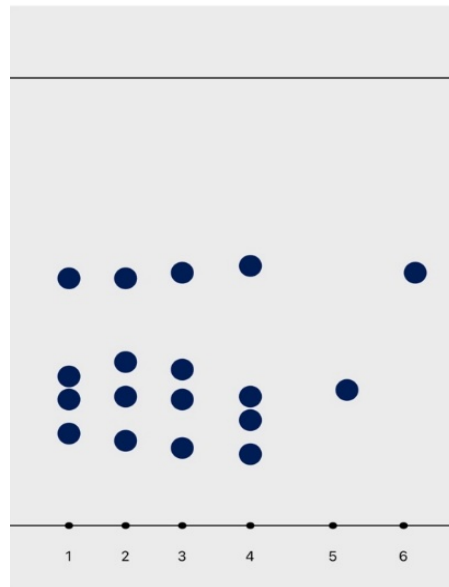


Рисунок 16 – Визуализация результатов ТСХ-анализа дубильных веществ в побегах курильского чая (*Potentilla fruticosa* (L.)): 1 – извлечение в фазу начала бутонизации, 2 – извлечение в фазу бутонизации, 3 – извлечение в фазу цветения, 4 -извлечение в период плодоношения, 5 – СО танин, 6 – СО галловая кислота.

Условия хроматографического разделения описаны в разделе 2.6

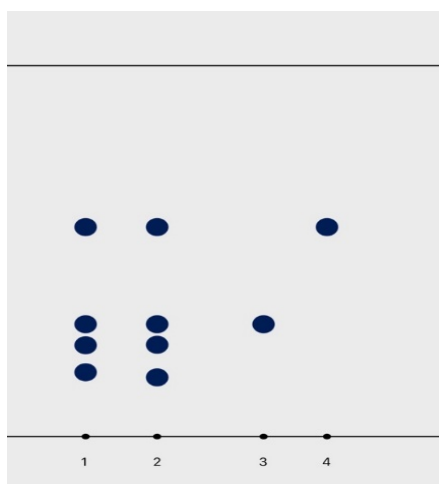


Рисунок 17 – Визуализация результатов ТСХ-анализа дубильных веществ в цветках курильского чая (*Potentilla fruticosa* (L.)): 1 - извлечение в фазу бутонизации, 2 - извлечение в фазу цветения, 3 – СО танин, 4 – СО галловая кислота. Условия хроматографического разделения описаны в разделе 2.6

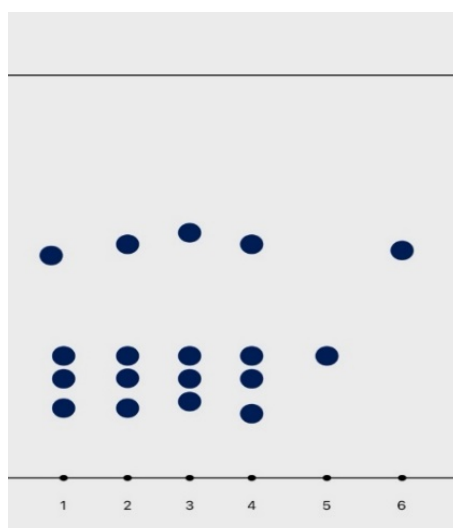


Рисунок 18 – Визуализация результатов ТСХ-анализа дубильных веществ в листьях курильского чая (*Potentilla fruticosa* (L.)): 1 - извлечение в фазу начала бутонизации, 2 - извлечение в фазу бутонизации, 3 - извлечение в фазу цветения, 4 -извлечение в фазу плодоношения, 5 – СО танин, 6 – СО галловая кислота. Условия хроматографического разделения описаны в разделе 2.6

Согласно результатам ТСХ, во всех исследуемых образцах после детектирования раствором железоаммонийных квасцов обнаружены зоны адсорбции. Путем сравнения значений R_f выявленных пятен со значениями R_f СО танина и СО галловой кислоты было подтверждено наличие данных веществ.

4.1.2 Тонкослойная хроматография на полисахариды

На предварительном этапе анализа сырья курильского чая качественной реакцией с 96 %-ным спиртом этиловым было подтверждено наличие полисахаридного комплекса во всех видах исследуемого сырья. Состав моносахаридной фракции определяли после кислотного гидролиза методом ТСХ, Рисунок 19.

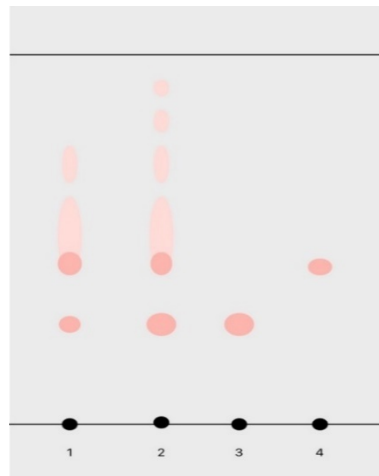


Рисунок 19 – Схема хроматограммы моносахаров, после гидролиза полисахаридов *Potentilla fruticosa* (L.): 1 - извлечение из листьев, 2 - извлечение из побегов, 3 – СО глюкозы, 4 – СО рамнозы. Условия хроматографического разделения описаны в разделе 2.6

После проведения кислотного гидролиза полисахаридных фракций, выделенных из извлечений *Potentilla fruticosa* (L.) путем осаждения 96 % этиловым спиртом, была проведена идентификация моносахаридов. При сопоставлении значений R_f обнаруженных зон адсорбции со значениями R_f СО в исследуемых пробах были идентифицированы глюкоза и рамноза [111].

4.1.3 Тонкослойная хроматография на органические кислоты

Данные тонкослойной хроматографии подтверждают присутствие комплекса свободных органических кислот во всех анализируемых пробах (Рисунок 20).

Значения фронтальной подвижности (R_f) доминирующих зон в экстрактах соответствуют показателям эталонных образцов кислот: лимонной (0,26), щавелевой (0,21) и яблочной (0,58). Наряду с идентифицированными компонентами на хроматограммах зафиксированы дополнительные зоны: три пятна в пробах из листьев и цветков и четыре — в извлечении из побегов. Обобщенные сведения о хроматографическом профиле включены в Таблице 19.

Таблица 19 – Хроматографические характеристики R_f органических кислот, обнаруженных в извлечениях из *Potentilla fruticosa* (L.)

Исследуемое сырье	Хроматографические характеристики R_f зон разделения	Установлено
Извлечение из цветков курильского чая	0.21 0.26 0.34 0.46 0.58 0.65	Щавелевая к-та Лимонная к-та Неидентифицировано Неидентифицировано Яблочная кислота Неидентифицировано
Извлечение из листьев курильского чая	0.20 0.27 0.33 0.45 0.58 0.66	Щавелевая к-та Лимонная к-та Неидентифицировано Неидентифицировано Яблочная кислота Неидентифицировано
Извлечение из побегов курильского чая	0.20 0.26 0.35 0.46 0.57 0.64 0.69	Щавелевая к-та Лимонная к-та Неидентифицировано Неидентифицировано Яблочная кислота Неидентифицировано Неидентифицировано

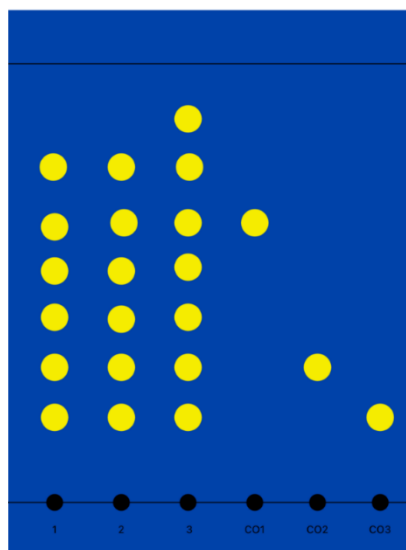


Рисунок 20 – Визуализация результатов ТСХ-анализа органических кислот в сырье курильского чая (*Potentilla fruticosa* (L.)): 1 - цветки, 2 - листья, 3 – побеги, СО(1) – СО Яблочная кислота, СО(2) – СО Лимонная кислота, СО(3) – СО Щавелевая кислота. Условия хроматографического разделения описаны в разделе 2.6

Выполнена оценка состава фракции свободных органических кислот в различных морфологических группах сырья курильского чая. С помощью метода ТСХ во всех анализируемых пробах выявлен комплекс органических кислот, представленный яблочной, щавелевой и лимонной кислотами. Подлинность обнаруженных соединений подтверждена совпадением значений R_f зон адсорбции со значениями стандартных веществ-маркеров.

4.2 Количественное определение биологически активных веществ в сырье курильского чая

4.2.1 Определение экстрактивных веществ

Количественную оценку доли экстрактивных веществ в исследуемых образцах определяли с помощью весового метода. В роли экстрагентов выступали вода, этанол в различных концентрациях, ацетонитрил, а также липофильные

растворители (хлороформ и гексан). Итоговые данные отражены в Таблице 20 и для визуализации, полученных результатов представлены на Рисунке 21.

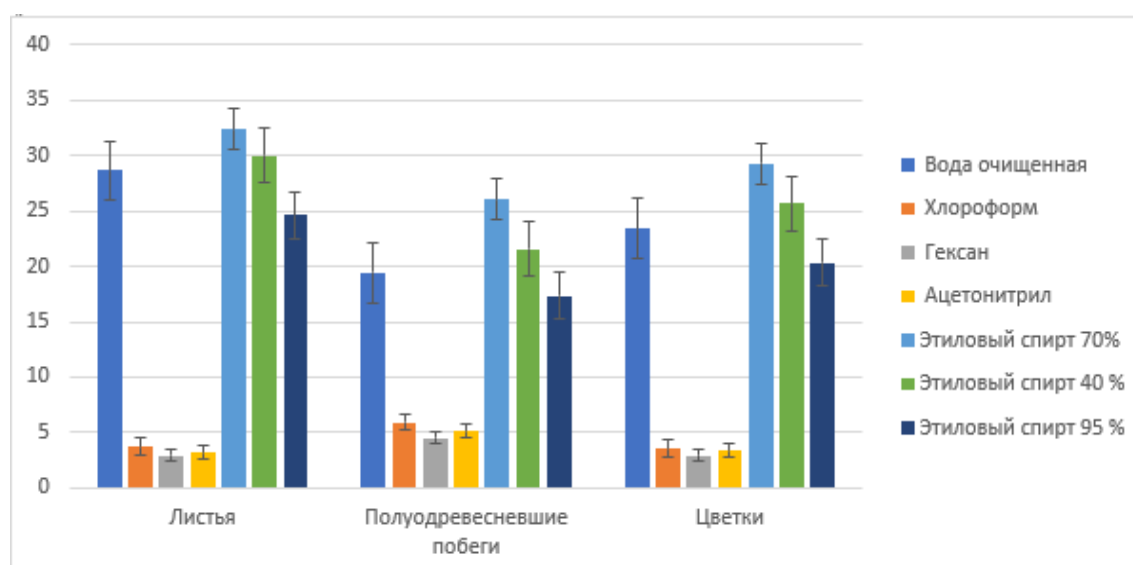


Рисунок 21 - Содержание экстрактивных веществ *Potentilla fruticosa* (L.)

Таблица 20 – Содержание экстрактивных веществ в сырье курильского чая, %

Части растения	Вода очищенная	Этиловый спирт			Хлороформ	Гексан	Ацетонитрил
		45 %	70 %	95 %			
Листья	28,66 ± 0,14	30,0 ± 0,20	32,38 ± 0,24	24,6 ± 0,2	3,72 ± 0,16	2,92 ± 0,16	3,22 ± 0,16
Полудревесневшие побеги	19,42 ± 0,16	21,58 ± 0,24	26,06 ± 0,14	17,3 ± 0,2	5,94 ± 0,26	4,54 ± 0,19	5,14 ± 0,14
Цветки	23,42 ± 0,16	25,64 ± 0,23	29,24 ± 0,14	20,34 ± 0,26	3,54 ± 0,14	2,96 ± 0,17	3,38 ± 0,24

Как показывают данные, представленные в Таблице 20, максимальное количество биологически активных веществ может быть извлечено из исследуемого сырья с использованием 70 % этанола в качестве экстрагента. Это наблюдение соответствует опубликованным литературным данным [31], которые

демонстрируют преобладание полифенольных соединений в сырье *Potentilla fruticosa* (L.). Эта группа веществ соответствует типичному метаболизму семейства Розовые [134, 138, 141, 155, 157, 159, 171].

4.2.2 Определение содержания полисахаридов

Для количественной оценки содержания суммы полисахаридов в сырье курильского чая (Таблица 21) использовали метод гравиметрии [48].

Таблица 21 – Содержание суммы полисахаридов в побегах и листьях курильского чая ($n = 5$, $f = 4$, $P = 95 \%$)

Части растения	Содержание сахаров, %	Метрологические характеристики методики
Листья курильского чая	5,15 5,27 5,19 5,23 5,21	$x_{cp} = 5,21$ $S \approx 0,04472136$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0200$ $t = 2,78$ $E \approx 0,0107$ $\delta X \approx 0,0556$
Побеги курильского чая	4,24 4,36 4,28 4,32 4,35	$x_{cp} = 4,31$ $S \approx 0,05$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0224$ $t = 2,78$ $E \approx 0,0144$ $\delta X \approx 0,0622$

Результаты анализа свидетельствуют о том, что листья являются основным депо для накопления свободных сахаров и полисахаридной фракции. Относительный прирост концентрации углеводов в листьях по сравнению с побегами составил 8,76 %.

4.2.3 Определение содержания дубильных веществ

Учитывая имеющиеся литературные данные [124], демонстрирующие, что содержание дубильных веществ является одним из наиболее чувствительных показателей качества сырья к воздействию антропогенных факторов, нами для оценки содержания данной группы веществ в сырье *Potentilla fruticosa* (L.) были использованы образцы, заготовленные в разных районах Московской и Тверской областей в разные фазы вегетации.

Методологической базой исследования служила ОФС.1.5.3.0008.15, определяющая унифицированные подходы к анализу данной группы БАВ в лекарственном растительном сырье.

Количественную оценку суммарного содержания дубильных веществ в исследуемых образцах лапчатки кустарниковой проводили методом перманганатометрии. Титрование осуществляли в присутствии индигосульфокислоты, выступающей в роли индикатора, с последующим пересчетом результатов на танин [93]. Результаты количественного определения, представлены в Таблице 22, при этом сравнительная характеристика накопления дубильных веществ в различные фазы вегетации наглядно отражена на Рисунках 22 – 25.

Таблица 22 – Динамика накопления дубильных веществ в сырье курильского чая в различные фазы вегетации [93]

Место заготовки объекта исследования	Используемое сырье	Содержание дубильных веществ (% от массы абсолютно сухого сырья)			
		Начало вегетации	Бутонизация	Цветение	Плодоношение
г. Москва, Ботанический сад Сеченовского университета	Побеги	7,21 ± 0,02	7,49 ± 0,02	9,86 ± 0,02	9,44 ± 0,03
	Листья	11,17 ± 0,02	11,57 ± 0,03	11,98 ± 0,03	11,28 ± 0,03
	Цветки	-	6,76 ± 0,02	12,08 ± 0,03	-

Продолжение Таблицы 22

Московская область, г. Истра	Побеги	$6,77 \pm 0,03$	$8,15 \pm 0,03$	$8,98 \pm 0,03$	$8,81 \pm 0,03$
	Листья	$10,86 \pm 0,02$	$11,12 \pm 0,03$	$11,44 \pm 0,03$	$11,08 \pm 0,4$
	Цветки	-	$7,18 \pm 0,03$	$11,67 \pm 0,03$	-
Московская область, Чеховский район	Побеги	$7,32 \pm 0,03$	$7,74 \pm 0,03$	$9,91 \pm 0,03$	$9,12 \pm 0,03$
	Листья	$11,21 \pm 0,03$	$11,68 \pm 0,03$	$11,99 \pm 0,03$	$11,31 \pm 0,03$
	Цветки	-	$6,85 \pm 0,03$	$12,21 \pm 0,03$	-
Московская область, Клинский район	Побеги	$6,54 \pm 0,03$	$6,96 \pm 0,03$	$8,91 \pm 0,03$	$8,34 \pm 0,03$
	Листья	$10,74 \pm 0,03$	$10,99 \pm 0,03$	$11,20 \pm 0,03$	$10,85 \pm 0,03$
	Цветки	-	$6,54 \pm 0,03$	$11,36 \pm 0,03$	-
Тверская область	Побеги	$6,90 \pm 0,01$	$9,12 \pm 0,02$	$9,94 \pm 0,03$	$9,62 \pm 0,18$
	Листья	$10,54 \pm 0,03$	$10,81 \pm 0,03$	$11,08 \pm 0,03$	$10,06 \pm 0,03$
	Цветки	-	$6,48 \pm 0,03$	$11,29 \pm 0,03$	-

Установлено, что динамика накопления дубильных веществ в надземных частях растения характеризуется выраженной закономерностью: постепенное аккумулярование соединений от начала вегетации к периоду цветения сменяется резким, скачкообразным снижением концентрации в фазу плодоношения. Для получения максимально насыщенного дубильными веществами сырья целесообразно проводить сбор листьев и цветков строго в фазу цветения.

Пик аккумуляции дубильных веществ зафиксирован в фазу цветения в цветках, заготовленных на территории Чеховского района Московской области ($12,21 \pm 0,03$ %) (Рисунок 24). В то же время минимальные показатели отмечены в цветках в фазу бутонизации, собранных в Тверской области, где содержание составило всего лишь $6,48 \pm 0,03$ % (Рисунок 23) [93].

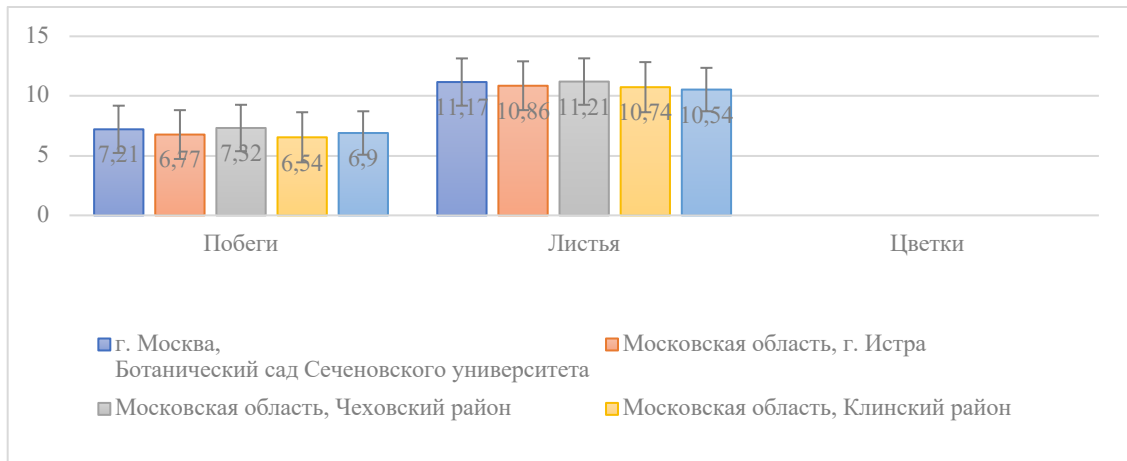


Рисунок 22 – Сравнительная характеристика накопления дубильных веществ в образцах различного территориального происхождения (фаза начала вегетации)

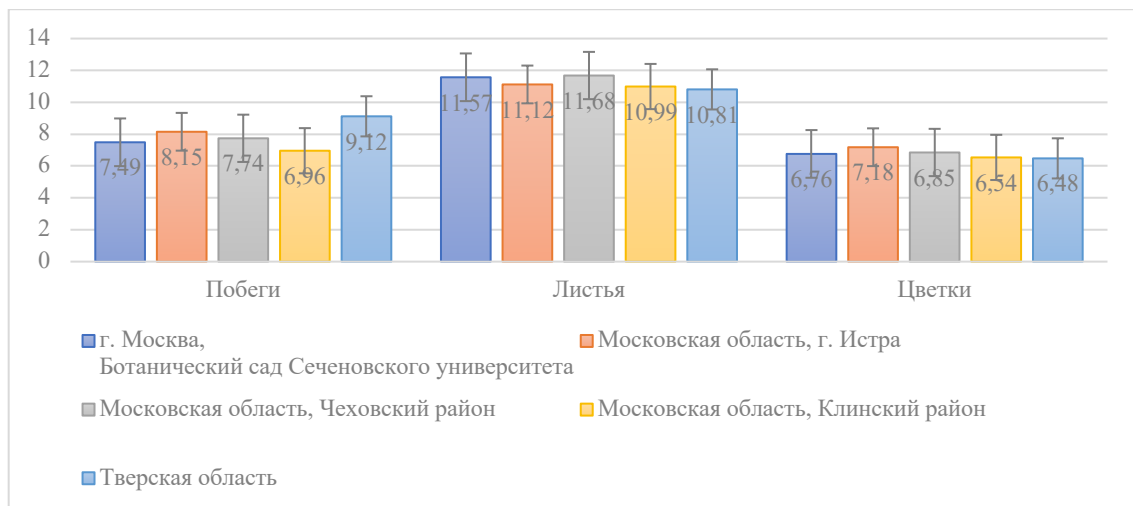


Рисунок 23 – Сравнительная характеристика накопления дубильных веществ в образцах различного территориального происхождения (фаза бутонизации)

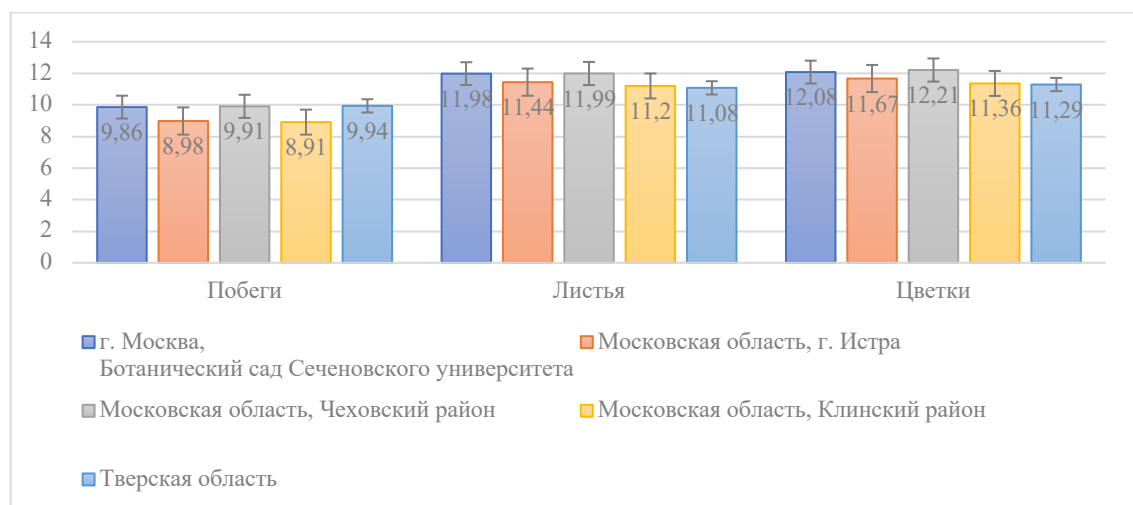


Рисунок 24 – Сравнительная характеристика накопления дубильных веществ в образцах различного территориального происхождения (фаза цветения)

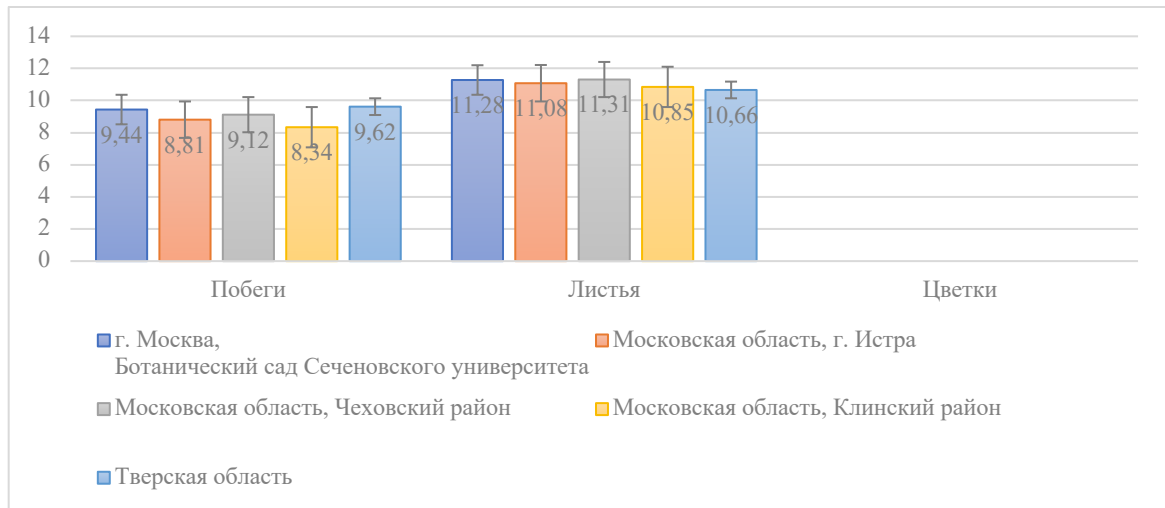


Рисунок 25 – Сравнительная характеристика накопления дубильных веществ в образцах различного территориального происхождения (фаза плодоношения)

В ходе исследования установлено, что культивирование оказывает стимулирующее влияние на продуктивность накопления дубильных веществ в надземных органах *Potentilla fruticosa* (L.). Выявленная динамика свидетельствует о стабильном характере прироста содержания дубильных веществ на протяжении вегетации с достижением максимума и последующим плавным снижением количественных показателей к фазе плодоношения [41, 93].

Наибольшее содержание соединений выявлено в образцах, произрастающих в южной части Московской области (Чеховский район) и в г. Москве. При этом образцы из северо-западных районов (Клинский район, г. Истра) характеризуются стабильно более низкими значениями (в среднем на 8–10 % ниже), что подтверждает чувствительность биосинтеза дубильных веществ к локальным почвенно-климатическим условиям.

4.2.4 Определение фенольных соединений

Количественную оценку суммарного содержания фенольных соединений осуществляли спектрофотометрическим методом с применением реактива Фолина-Чокальтеу [97].

Методика базируется на способности фосфорно-вольфрамовой и фосфорно-молибденовой кислот вступать в стехиометрическое взаимодействие с полифенолами. В результате окислительно-восстановительного процесса образуется окрашенный комплекс (смесь низших оксидов вольфрама и молибдена), интенсивность голубой окраски которого прямо коррелирует с концентрацией аналитов в пробе [34, 92].

Количественное определение полифенольных соединений проводили по градуировочному графику (Рисунок 26).

Контрольным раствором служила смесь всех компонентов без внесения стандартного образца танина. Результаты измерений, послужившие основой для построения графика, приведены в Таблице 23.

Таблица 23 – Параметры калибровочной зависимости для количественного анализа полифенольных соединений

Раствор Б, мл	Вода, мл	Реактив Фолина Чокальтеу, мл	20 % раствор натрия карбоната, мл	Полученная концентрация раствора, мкг/мл	Оптическая плотность
0	2	0,25	1,25	0	0
0,1	2	0,25	1,25	5	0,456
0,2	2	0,25	1,25	10	0,834
0,3	2	0,25	1,25	15	1,327
0,4	2	0,25	1,25	20	1,584
0,5	2	0,25	1,25	25	2,033

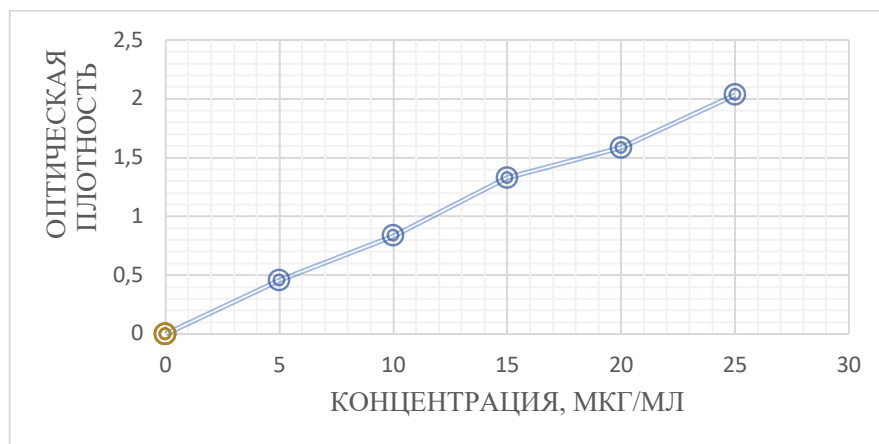


Рисунок 26 – Калибровочная зависимость оптической плотности от концентрации СО танина

Параметры калибровочной зависимости, отражающие взаимосвязь между содержанием полифенольных соединений от массы навески, систематизированы в Таблице 24 и на Рисунке 27.

Таблица 24 – Показатели содержания полифенольных веществ в зависимости от массы навески

Масса побегов, г	Масса полифенольных веществ, г
$2,41 \pm 0,03$	$0,304 \pm 0,01$
$3,05 \pm 0,06$	$0,408 \pm 0,02$
$4,21 \pm 0,02$	$0,522 \pm 0,02$
$5,26 \pm 0,06$	$0,631 \pm 0,04$
$6,38 \pm 0,04$	$0,739 \pm 0,03$

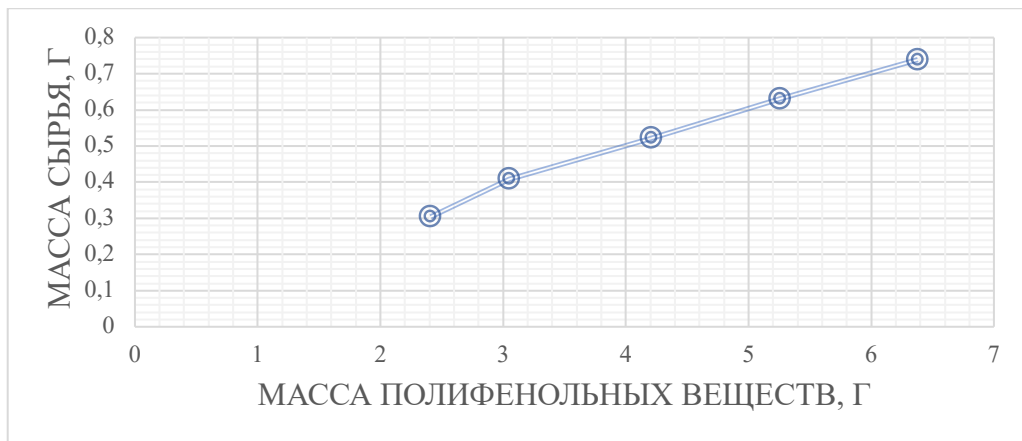


Рисунок 27 – Калибровочная кривая, отражающая связь между массой навески курительного чая и выходом полифенольных соединений

Валидацию разработанной методики в части её правильности осуществляли с применением спектрофотометрического метода, базирующегося на регистрации избирательного поглощения электромагнитного излучения анализируемыми растворами. Экспериментальные данные, подтверждающие достоверность определений, систематизированы в таблице 25.

Таблица 25 – Сводные данные, характеризующие метрологические показатели методики количественного определения полифенольных соединений в побегах

Масса добавленного СО танин в составе точно рассчитанного объема раствора, г	Масса сырья, г	Рассчитанное количество полифенольных веществ, г	Найдено спектрофотометрическим методом, г	Открываемость %
0,0005	1,0044	0,0813	0,0822	101,10
	1,0061	0,0814	0,0824	101,20
	1,0134	0,082	0,0829	101,09
0,001	1,0066	0,0815	0,0824	101,10
	1,0056	0,0816	0,0812	99,51
	1,0121	0,0819	0,0813	99,26
0,0015	1,0069	0,0815	0,0822	100,85
	1,0062	0,0814	0,0818	100,37
	1,0141	0,0826	0,0821	99,39

Предоставленные данные подтверждают высокую точность, правильность и валидность спектрофотометрического метода определения полифенольных соединений в побегах чая курильского, так как средний показатель открываемости составил 100,43 %. Результаты содержания полифенольных веществ представлены в Таблице 26.

Таблица 26 – Количественное содержание полифенольных соединений в побегах курильского чая

Исследуемое сырье	Метод определения	Содержание полифенольного комплекса
Побеги курильского чая	Спектрофотометрия	8,1% ± 0,08

4.2.5 Определение содержания органических кислот

Содержание суммы органических кислот в сырье чая курильского устанавливали с помощью алкалиметрического метода. Экспериментальные данные, полученные в ходе прямого кислотно-основного титрования, систематизированы в Таблице 27 [41].

Таблица 27 – Характеристика содержания органических кислот в побегах курильского чая

Исследуемое сырье	Содержание свободных органических кислот, %	Метрологические характеристики методики
Цветки курильского чая	2,87 2,91 2,89 2,88 2,90	$x_{cp} = 2.890$ $S \approx 0.016$ $S_{x_{cp}} \approx 0.0071$ $t = 2.776$ $\epsilon \approx 0.020$ $\delta \approx 0.69 \%$
Листья курильского чая	2,34 2,30 2,31 2,32 2,34	$x_{cp} = 2.322$ $S \approx 0.0179$ $S_{x_{cp}} \approx 0.00800$ $t = 2.776$ $\epsilon \approx 0.022$ $\delta \approx 0.95 \%$
Побеги курильского чая	1,96 2,04 2,01 1,98 1,99	$x_{cp} = 1.996$ $S \approx 0.0305$ $S_{x_{cp}} \approx 0.01364$ $t = 2.776$ $\epsilon \approx 0.038$ $\delta \approx 1.90 \%$

Максимальное количество органических кислот присутствует в цветках курильского чая, в которых органических кислот на 17,24 % больше, чем в листьях и на 31,37 % больше, чем в побегах.

4.3 Анализ аминокислотного состава образцов лапчатки кустарниковой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с постколоночной дериватизацией

Испытание проводим методом ионообменной хроматографии с использованием постколоночной дериватизации, описанном в разделе 2.8. Результаты анализа и расчеты сведены в Таблицу 28.

Таблица 28 – Количественное содержание аминокислот в сырье курильского чая

Определяемая аминокислота	Молекулярная масса	Содержание аминокислоты в испытуемом растворе, нмоль/проба			Содержание, г/ 100 г исходного сухого образца, %		
		№1	№2	№3	№1	№2	№3
Аспарагиновая кислота (Asp)	133.1	21.75	6.56	3.01	0.80	0.77	0.31
Треонин (Thr)	119.1	5.79	3.26	0.99	0.19	0.34	0.09
Серин (Ser)	105.1	9.37	3.21	1.10	0.27	0.30	0.09
Глутаминовая кислота (Glu)	147.1	15.50	7.34	2.53	0.63	0.95	0.29
Пролин (Pro)	115.1	7.58	4.43	1.51	0.24	0.45	0.13
Глицин (Gly)	75.1	9.32	6.41	1.69	0.19	0.42	0.10
Аланин (Ala)	89.1	8.81	7.41	2.90	0.22	0.58	0.20
Валин (Val)	117.1	8.94	0.70	0.10	0.29	0.07	0.01
Метионин (Met)	149.2	1.24	1.10	0.54	0.05	0.15	0.06
Изолейцин (Ile)	131.2	6.01	3.72	0.95	0.22	0.43	0.10
Лейцин (Leu)	131.2	8.98	6.56	1.55	0.33	0.76	0.16
Тирозин (Tyr)	181.2	2.37	1.97	0.32	0.12	0.32	0.04
Фенилаланин (Phe)	165.2	4.80	3.22	0.67	0.22	0.47	0.09
Гидроксилизин (Hyl)	162.2	0.27	0.61	0.22	0.01	0.09	0.03
Лизин (Lys)	146.2	6.09	4.75	1.56	0.25	0.61	0.18
Гистидин (His)	155.2	2.39	1.58	0.61	0.10	0.22	0.07
Аргинин (Arg)	174.2	3.86	3.67	0.87	0.19	0.56	0.12
Сумма, %					4.3	7.5	2.0
Внесено, мг		3.6	4.53	5.2			
Объем вкола, мкл		100	25	25			

Для идентификации компонентов на Рисунке 28 приведен анализ стандартной смеси аминокислот. Последующая оценка исследуемого сырья отражает специфику накопления этих соединений в различных органах растения: цветках (Рисунок 29), листьях (Рисунок 30) и стеблях (Рисунок 31).

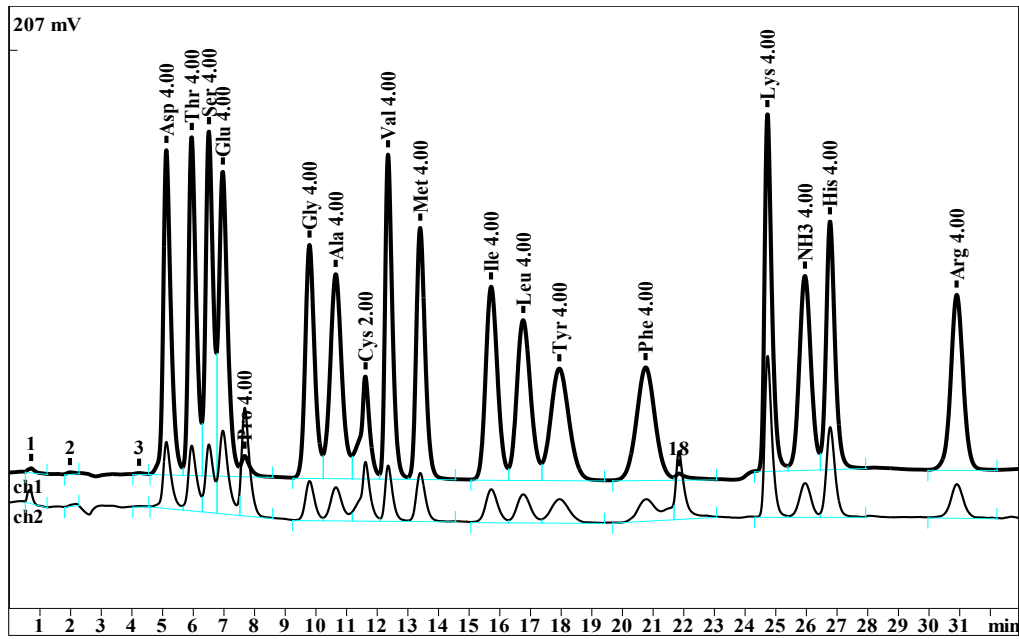


Рисунок 28 – Хроматографическое разделение стандартной смеси аминокислот. Объем пробы 50 мкл. Условия приведены в разделе 2.8

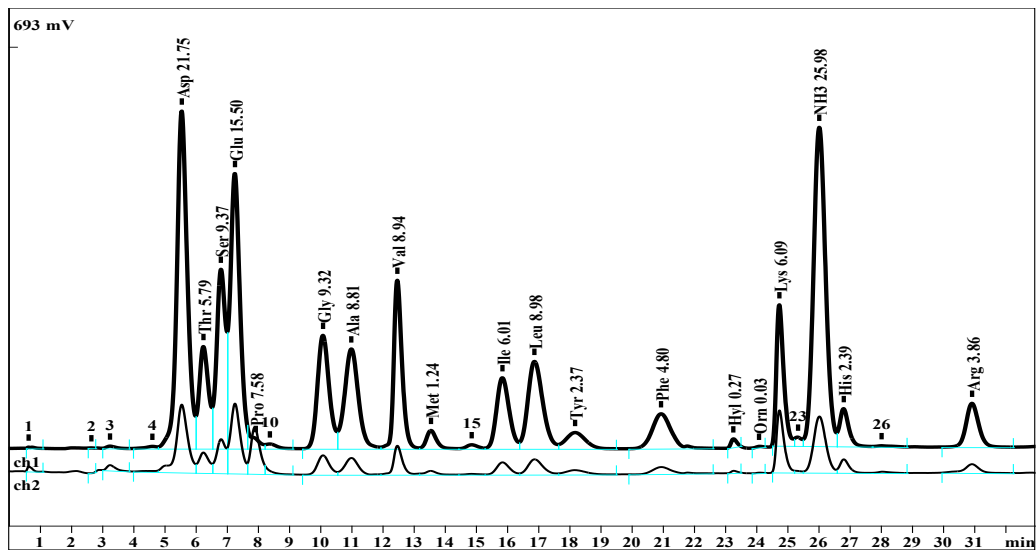


Рисунок 29 – Хроматографическое разделение аминокислотной фракции цветков *Potentilla fruticosa* (L.). Объем вкола 100 мкл. Условия приведены в разделе 2.8

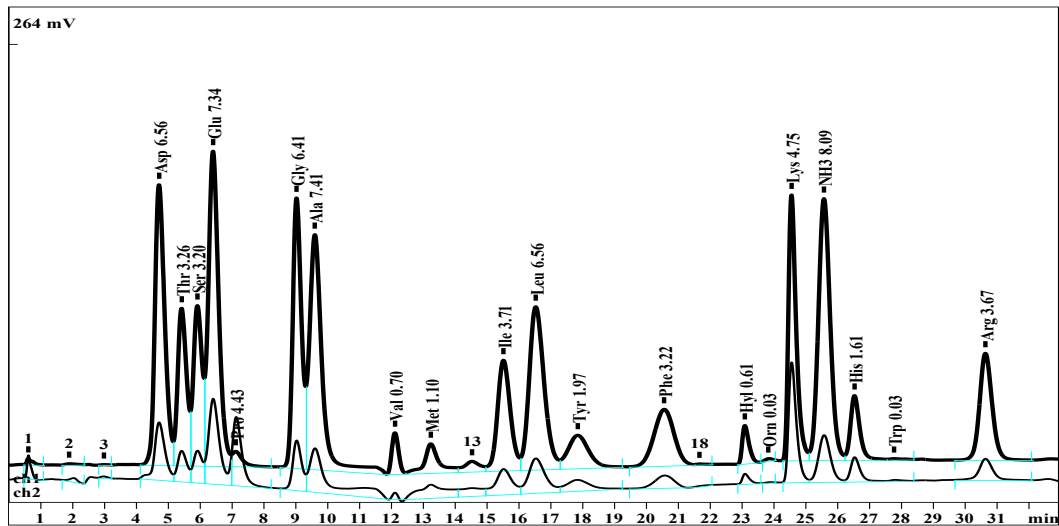


Рисунок 30 – Хроматографическое разделение аминокислотной фракции листьев *Potentilla fruticosa* (L.). Объем вкола 25 мкл. Условия приведены в разделе 2.8

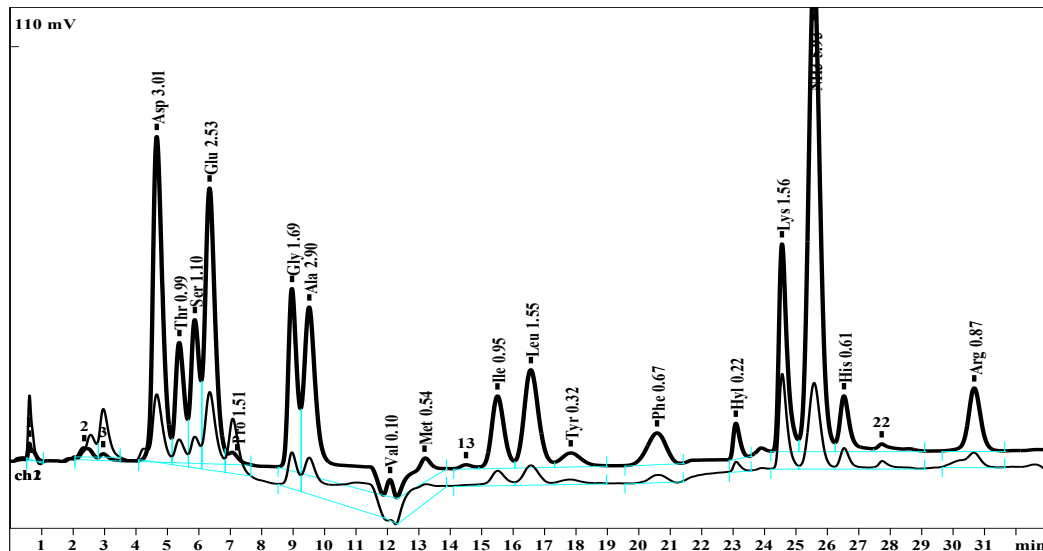


Рисунок 31 – Хроматографическое разделение аминокислотной фракции стебли *Potentilla fruticosa* (L.). Объем вкола 25 мкл. Условия приведены в разделе 2.8

В ходе проведенного аминокислотного анализа подтвердили идентичность аминокислотных профилей для листьев, цветков и стеблей курильского чая. В каждом исследуемом образце было обнаружено 17 аминокислот, из которых 13 алифатические, 2 ароматические и 2 гетероциклические. Количественное содержание установленных аминокислот представлено на Рисунке 32.

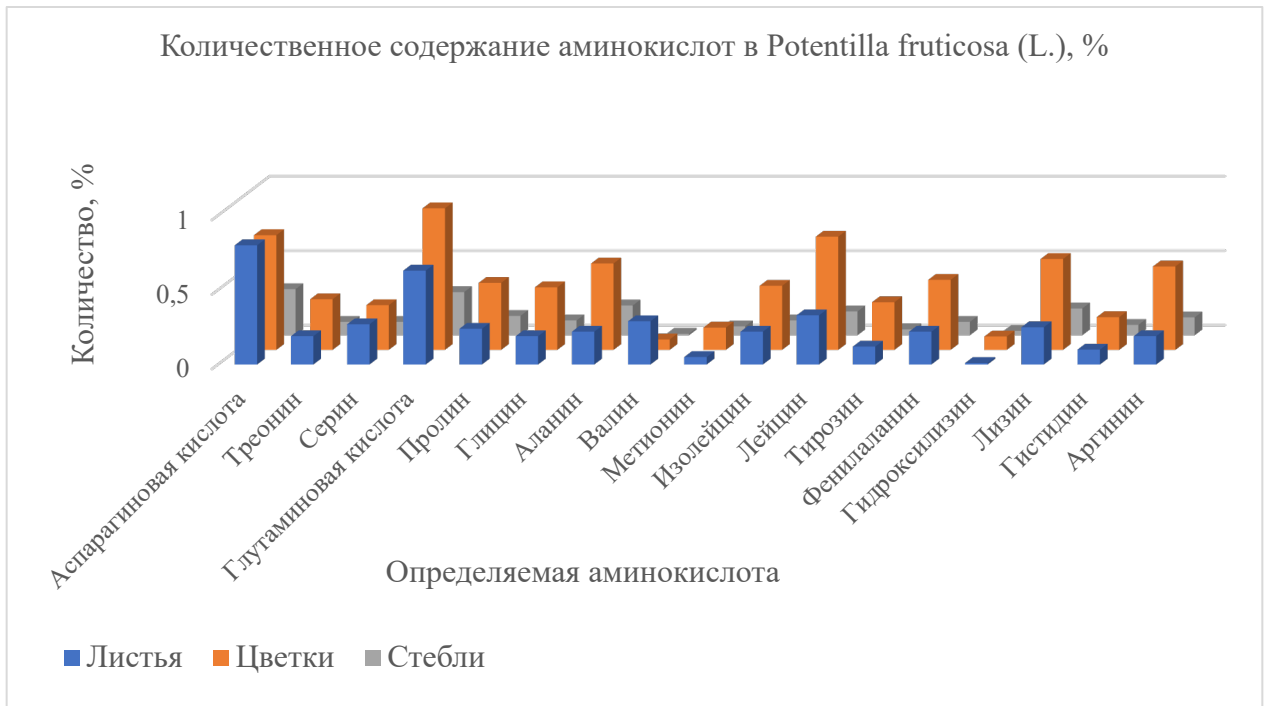


Рисунок 32 – Количественное содержание аминокислот в цветках, листьях и стеблях курильского чая

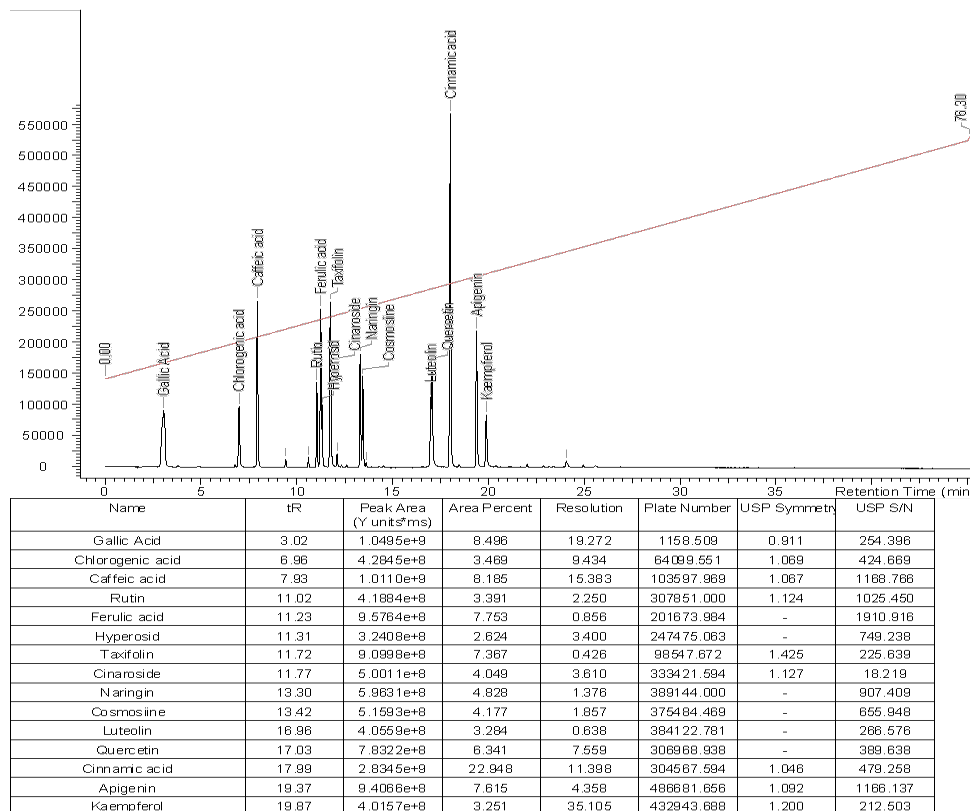
Таким образом в ходе проведенного анализа, впервые установлен аминокислотный состав в стеблях, листьях и цветках курильского чая, из которых незаменимыми являются 9 аминокислот.

Как следует из данных таблицы 28, в цветках и стеблях больше всего преобладает аспарагиновая кислота, листья характеризуются повышенным содержанием аланина. Известно, что аспарагиновая кислота активно участвует в метаболизме: синтезе пиримидиновых оснований, белков, ДНК и РНК. Она также способствует выработке антител и иммуноглобулинов, положительно влияет на работу ЦНС, что повышает общую ценность исследуемого сырья. Минорное содержание гидроксилизина отмечено в листьях, тогда как в цветках и стеблях минорным компонентом является валин.

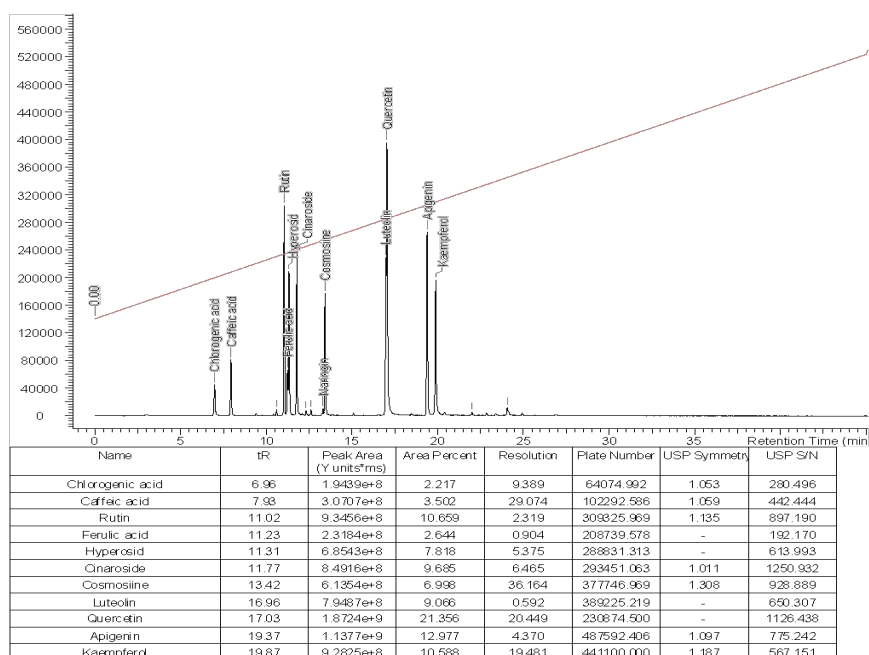
4.4 Анализ частей побегов лапчатки кустарниковой (стебли, листья, цветки) методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии

4.4.1 Анализ растворов стандартов для качественной идентификации компонентов образца

Профили детектирования стандартных образцов представлены на хроматограммах при различных длинах волн. На Рисунке 33 (А) отражены результаты анализа смеси стандартов (в концентрации около 0,1 мг/мл) в ультрафиолетовой области при длине волны 280 нм, а на Рисунке 33 (Б) при длине волны 360 нм.



A



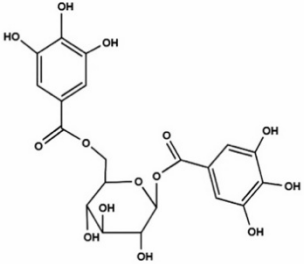
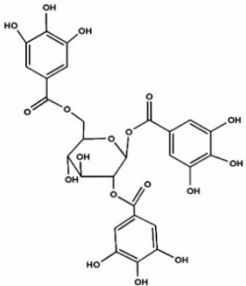
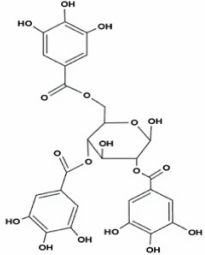
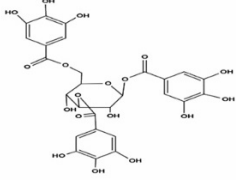
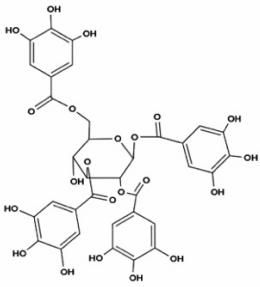
Б

Рисунок 33 – Хроматограмма раствора стандартов (около 0.1 мг/мл каждого компонента): А - при длине волны 280 нм, Б – при длине волны 360 нм. Условия приведены в разделе 2.9

На базе анализа масс-спектров в позитивном и негативном режимах было проведено отнесение пиков, соответствующих молекулярным ионам аналитов ($M+H^+$, $M+Na^+$ и $M-H^-$), предложена молекулярная масса компонента, а характер масс-спектральной фрагментации в совокупности с УФ-спектрами позволил интерпретировать структуру агликона, являющегося частью изучаемой молекулы. В некоторых случаях использовали времена удерживания имеющихся стандартов, а для изомеров ожидаемая последовательность выхода компонентов (гидрофобность). Также использовали литературные данные [135, 175, 179].

Ввиду многокомпонентного состава и высокой сложности исследуемых смесей, учету и обработке подлежали только те пики, относительное содержание которых составляло не менее 1 % от суммарной площади всех сигналов на хроматограмме при 280 и 360 нм, время удерживания не менее 3.0 мин и достаточный отклик на МС-детекторе. Предполагаемые структуры для компонентов, найденных в трех образцах, приведены в Таблице 29.

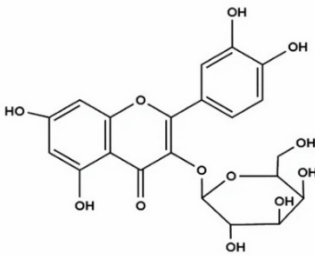
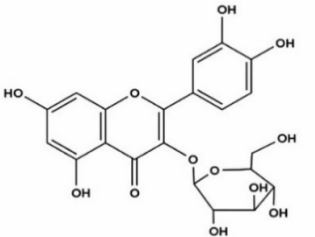
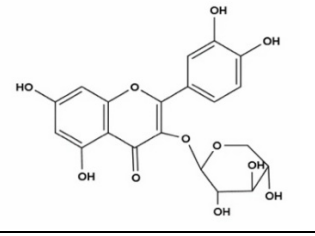
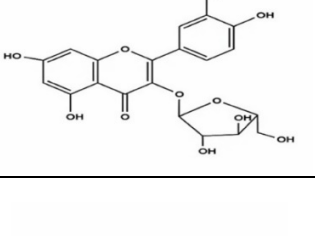
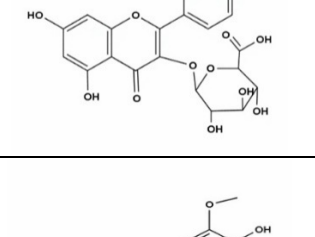
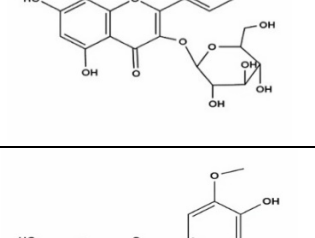
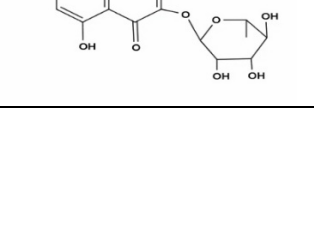
Таблица 29 – Предполагаемая химическая структура и аналитические параметры соединений, обнаруженных в частях курильского чая

N	Наименование	Время удерживания	УФ, нм	Молекулярная масса	Молекулярная формула	Структурная формула
Гидролизуемые танины						
1.	1,6-бис- <i>O</i> -галлоил- β - <i>D</i> -глюкопираноза	6.42	277	484	$C_{20}H_{20}O_{14}$	
2.	1,2,6-Тригаллоилглюкопираноза	8.48	277	636	$C_{27}H_{24}O_{18}$	
3.	2,4,6-Тригаллоилглюкопираноза	8.75	276	636	$C_{27}H_{24}O_{18}$	
4.	1,3,6-Тригаллоилглюкопираноза	8.96	280	636	$C_{27}H_{24}O_{18}$	
5.	1,2,3,6-Тетрагаллоилглюкопираноза	10.51	278	788	$C_{34}H_{28}O_{22}$	

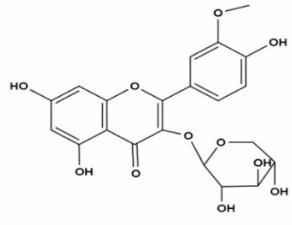
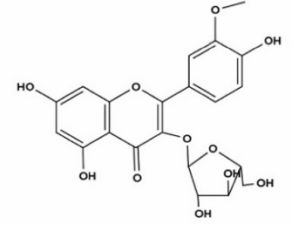
Продолжение Таблицы 29

6.	1,3,4,6- Тетрагаллоилглюкопираноза	10.83	366	788	$C_{34}H_{28}O_{22}$	
Проантоцианидины						
7.	Процианидин B1	9.58	276	578	$C_{30}H_{26}O_{12}$	
8.	Процианидин B3	6.53	279	578	$C_{30}H_{26}O_{12}$	
Катехины						
9.	Катехин	7.00	279	290	$C_{15}H_{14}O_6$	
Гликозиды флавонолов						
10.	Кверцетин-3-O-(6'-O-галлоил)- β -D- глюкопиранози д	10.72	356	616	$C_{28}H_{24}O_{16}$	
11.	Кверцетин-3-O- α -D- рамнопиранози д-7-O- β -D- глюкопиранози д	15.67	314	610	$C_{27}H_{30}O_{16}$	
12.	Рутин	11.02	355	610	$C_{27}H_{30}O_{16}$	

Продолжение Таблицы 29

13.	Гиперозид	11.30	355	464	$C_{21}H_{20}O_{12}$	
14.	Изокверцитрин	11.50	355	464	$C_{21}H_{20}O_{12}$	
15.	Кверцетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -ксилопиранозид	12.34	355	434	$C_{20}H_{18}O_{11}$	
16.	Кверцетин-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -арабинофуранозид	12.63	354	434	$C_{20}H_{18}O_{11}$	
17.	Кемпферол-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкуронид	12.86	348	462	$C_{21}H_{18}O_{12}$	
18.	Изорамнетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкопиранозид	17.03	355	478	$C_{22}H_{22}O_{12}$	
19.	Изорамнетин-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -рамнопиранозид	15.76	355	624	$C_{28}H_{32}O_{16}$	

Продолжение Таблицы 29

20.	Изoramнетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> - ксилопиранозид	18.26	355	448	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	
21.	Изoramнетин-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> - арабинофуранози д	18.49	356	448	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	

Объективность идентификации целевых соединений подтверждается сравнением времен удерживания на хроматограммах СО и исследуемых образцов при различных аналитических параметрах. Результаты разделения компонентов содержащихся в экстрактах в различных морфологических групп сырья зафиксированы в двух спектральных диапазонах для максимально полного выявления компонентов: для цветков в Таблице 30 (360 нм) и на Рисунке 34 (280 нм); для листьев на Рисунке 35 (360 нм) и Рисунке 36 (280 нм); для стеблей на Рисунке 37 (360 нм) и Рисунке 38 (280 нм).

Таблица 30 – Параметры хроматограммы образца №1 (Водно-спиртовой экстракт из цветков) при 360 нм, условия приведены в разделе 2.9

Наименование	Время удерживания	Площадь пика	Процент площади	Разрешение	Число теоретических тарелок	Фактор симметрии	Отношение сигнал/шум
Кверцетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -ксилопиранозид	10.14	9.7904 e+7	1.296	1.124	228400.73 4	-	56.704
Кверцетин-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -арабинофуранозид	10.23	2.8867 e+8	3.820	5.918	264829.43 8	-	167.687
Рутин	11.02	9.2376 e+7	1.222	3.530	295351.87 5	-	52.487
Гиперозид	11.30	1.1269 e+9	14.912	1.809	297176.68 8	1.234	644.774

Продолжение Таблицы 30

Изокверцитрин	11.50	3.2459 e+9	42.952	5.282	126829.35 9	1.103	1268.43 8
Кверцетин-3-О- β-D- ксилопиранозид	12.34	1.5952 e+9	21.108	3.341	298305.65 6	1.074	457.607
Кемпферол-3-О- β-D-глюкуронид	12.87	2.8217 e+8	3.734	5.566	165029.10 9	0.950	62.367
Кверцетин-3-О- α-D- рамнопиранозид -7-О-β-D- глюкопиранозид	15.67	1.2884 e+8	1.705	16.03 2	504885.46 9	1.118	152.920

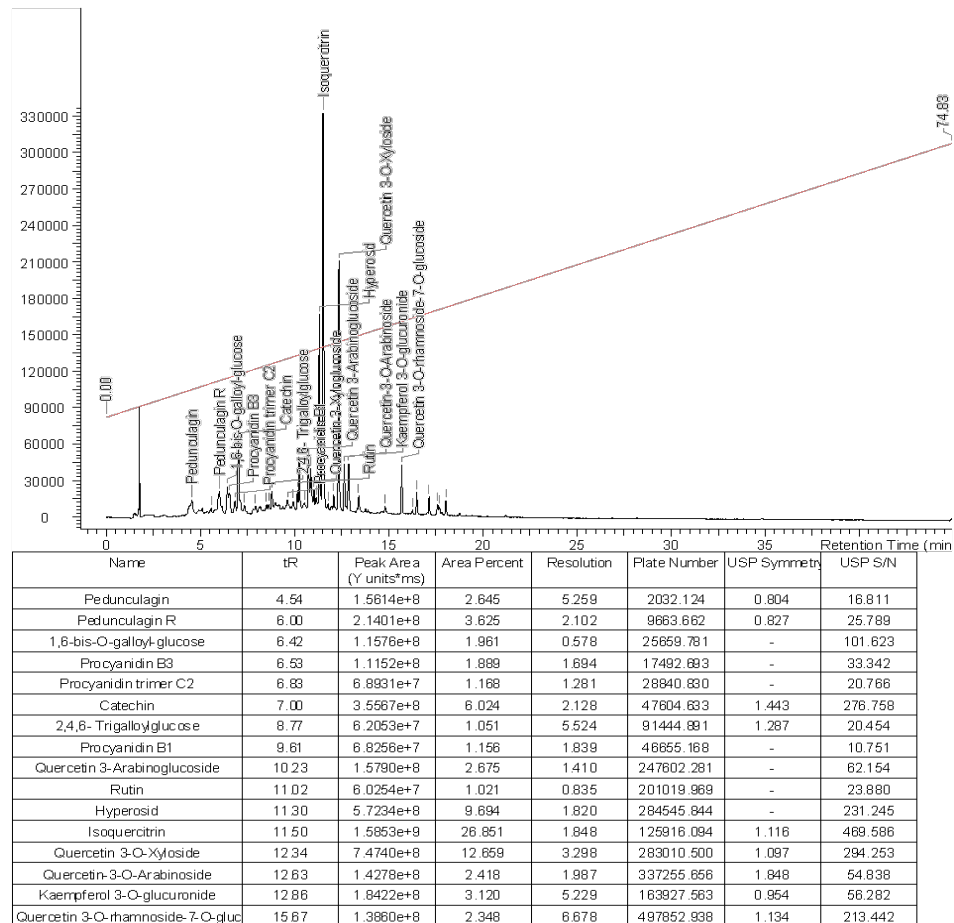


Рисунок 34 – Хроматограмма образца №2 (Водно-спиртовой экстракт из цветков) при 280 нм. Условия приведены в разделе 2.9

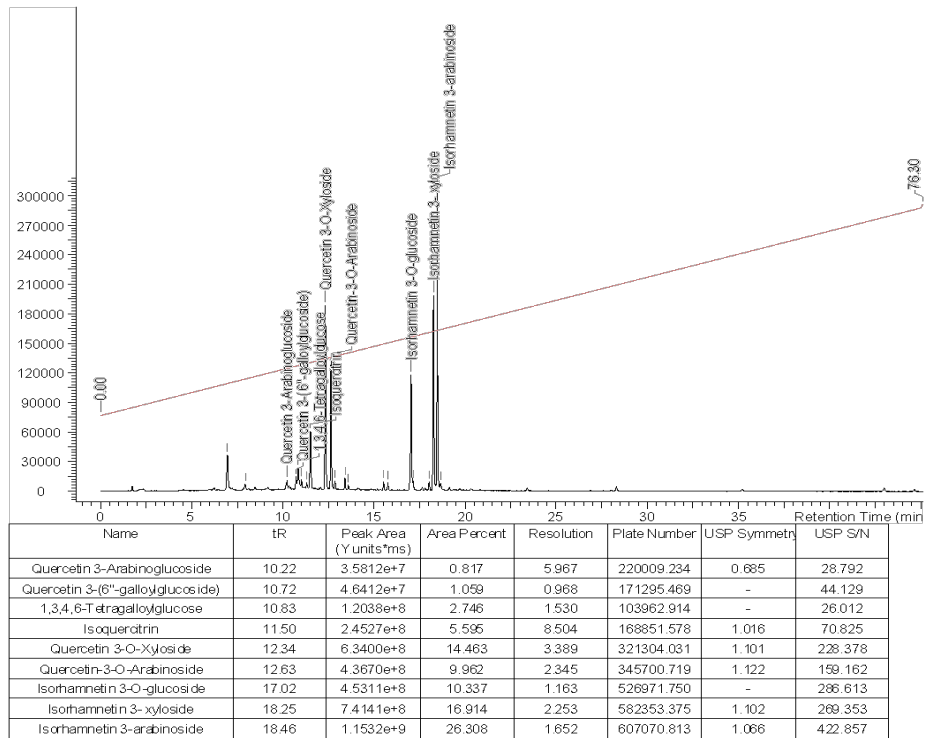


Рисунок 35 – Хроматограмма образца №2 (Водно-спиртовой экстракт из листьев) при 360 нм. Условия приведены в разделе 2.9

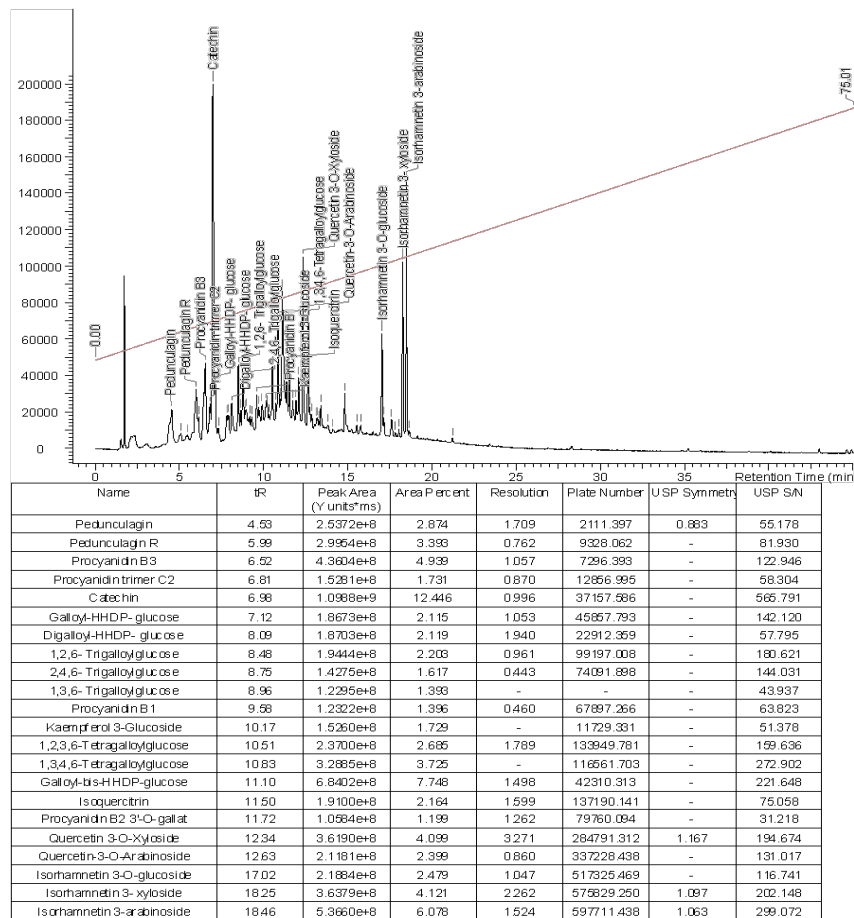


Рисунок 36 – Хроматограмма образца №2 (Водно-спиртовой экстракт из листьев) при 280 нм. Условия приведены в разделе 2.9

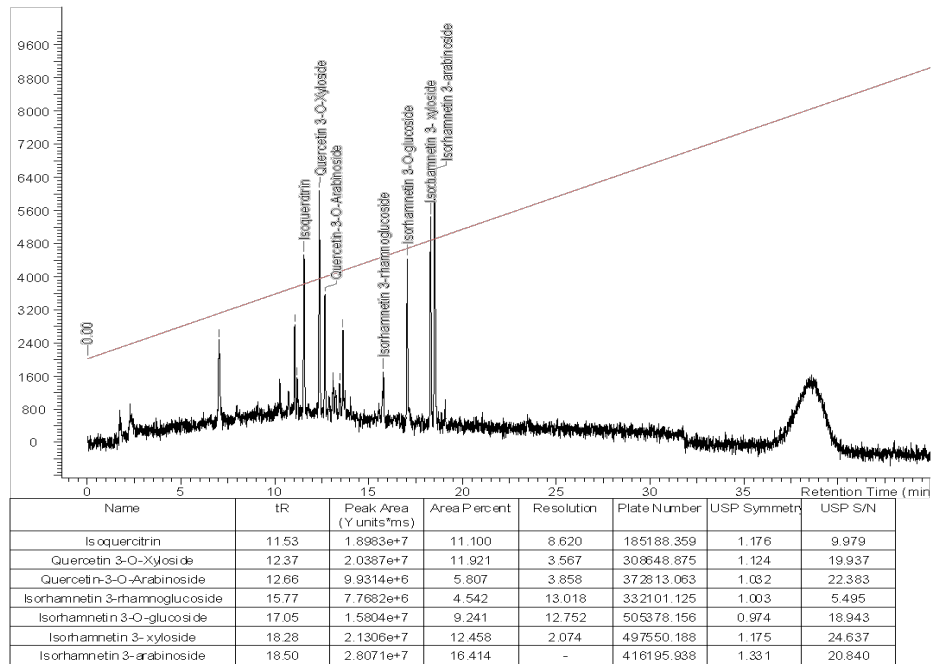


Рисунок 37 – Хроматограмма образца №3 (Водно-спиртовой экстракт из стеблей) при 360 нм. Условия приведены в разделе 2.9

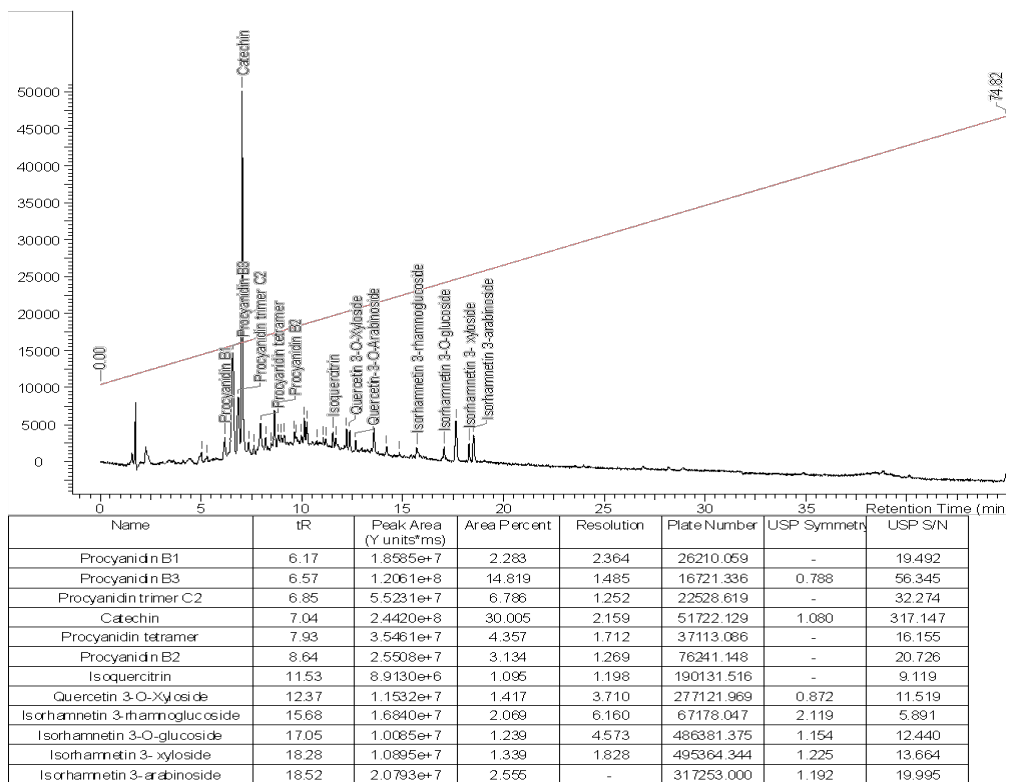


Рисунок 38 – Хроматограмма образца №3 (Водно-спиртовой экстракт из стеблей) при 280 нм. Условия приведены в разделе 2.9

Распределение найденных компонентов между образцами представлено в Таблице 31 и Рисунке 39.

Таблица 31 – Распределение компонентов

N	Наименование	Распределение компонентов между частями растения, %		
		Цветки	Листья	Стебли
1	Процианидин В1	0.0	0.0	100.
2	1,6-бис- <i>O</i> -галлоил- β - <i>D</i> - глюкопираноза	100.0	0.0	0.0
3	Процианидин В3	16.7	65.3	18.1
4	Катехин	20.9	64.7	14.4
5	1,2,6-Тригаллоилглюкопираноза	0.0	100.0	0.0
6	2,4,6-Тригаллоилглюкопираноза	30.3	69.7	0.0
7	1,3,6-Тригаллоилглюкопираноза	0.0	100.0	0.0
8	1,2,3,6-Тетрагаллоилглюкопираноза	0.0	100.0	0.0
9	Кверцетин-3- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -галлоил)- β - <i>D</i> - глюкопиранозид)	0.0	100.0	0.0
10	1,3,4,6-Тетрагаллоилглюкопираноза	0.0	100.0	0.0
11	Рутин	100.0	0.0	0.0
12	Гиперозид	100.0	0.0	0.0
13	Изокверцитрин	92.5	7.0	0.5
14	Кверцетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -ксилопиранозид	70.9	28.2	0.9
15	Кверцетин-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> - арабинофуранозид	37.5	61.1	1.4
16	Кемпферол-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкуронид	100.0	0.0	0.0
17	Кверцетин-3- <i>O</i> - α - <i>D</i> -рамнопиранозид- 7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкопиранозид	100.0	0.0	0.0
18	Изорамнетин-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> - рамнопиранозид	0.0	0.0	100.0
19	Изорамнетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> - глюкопиранозид	0.0	96.6	3.4
20	Изорамнетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> - ксилопиранозид	0.0	97.2	2.8
21	Изорамнетин-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> - арабинофуранозид	0.0	97.6	2.4

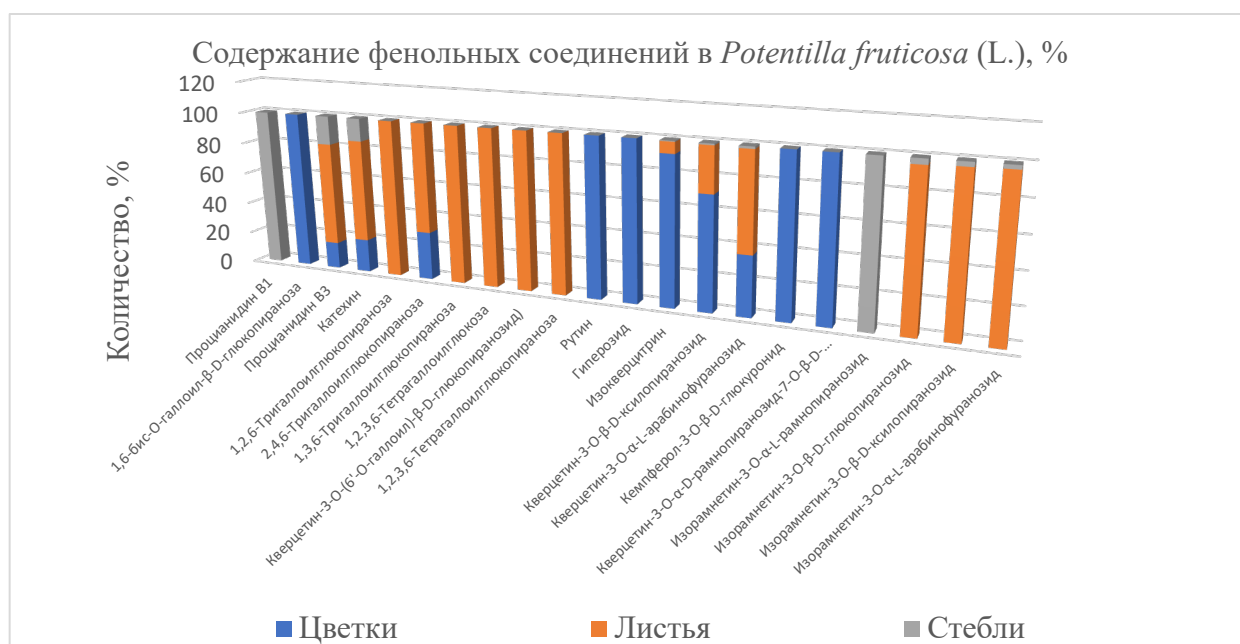


Рисунок 39 – Распределение компонентов фенольной природы в *Potentilla fruticosa* (L.)

Опираясь на результаты выполненных исследований, установлена органоспецифичность качественного состава фенольных соединений. Специфическими маркерами для стеблей являются процианидин В1, изорамнетин-3-О-α-L-рамнопиранозид. В то же время в цветках исключительно накапливаются 1,6-бис-О-галлоил-β-D-глюкопираноза, рутин, гиперозид, кемпферол-3-О-β-D-глюкуронид, кверцетин-3-О-α-D-рамнопиранозид-7-О-β-D-глюкопиранозид. Наиболее широкий спектр уникальных метаболитов идентифицирован в листьях, где обнаружены 1,2,6-тригаллоилглюкопираноза, 1,3,6-тригаллоилглюкопираноза, 1,2,3,6-тетрагаллоилглюкопираноза, кверцетин-3-О-(6'-О-галлоил)-β-D-глюкопиранозид), 1,3,4,6-тетрагаллоилглюкопираноза.

4.4.2 Идентификация компонентов

Поскольку для проведения количественного анализа суммы флавоноидов в пересчете на руин, целесообразно использование метода УФ спектрофотометрии нами было проведено соотнесение пиков с структурами.

Пики, содержащие одинаковый ион фрагмента с массой 303 в позитивном режиме ионизации, сходный УФ-спектр с максимум около 350 нм, являются производными кверцетина. Пики Рутин (Рисунок 40) и Гиперозид (Рисунок 41) идентифицированы по времени удерживания и спектральным характеристикам стандартов. Позиции гликозилирования и углеводный состав остальных компонентов были выбраны на основании анализа полученных спектральных данных с литературой [83].

Процесс идентификации мажорных компонентов исследуемых видов сырья визуализирован на Рисунках 40 – 45.

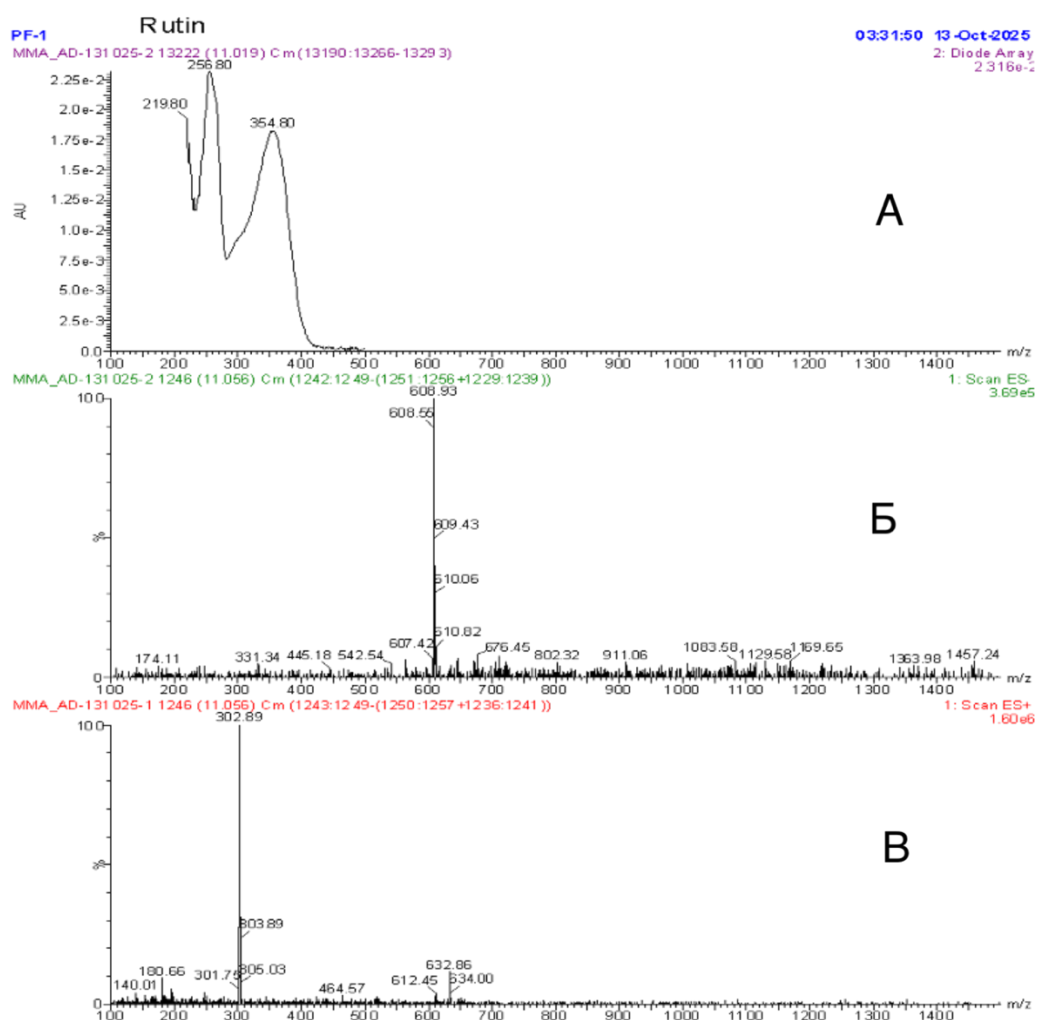


Рисунок 40 – Идентификация пика с временем удерживания 11.02: А – УФ-спектр. Б – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации гликозида. В – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации агликона

Как видно из Рисунка 40, наличие максимумов поглощения при длинах волн 256,8 и 354,8 нм характеризует УФ-спектр рутина, что соотносится с данными масс-спектров в режиме отрицательной ионизации для гликозида и его агликона (кверцетина). Таким образом, рутин выявлен в составе цветков.

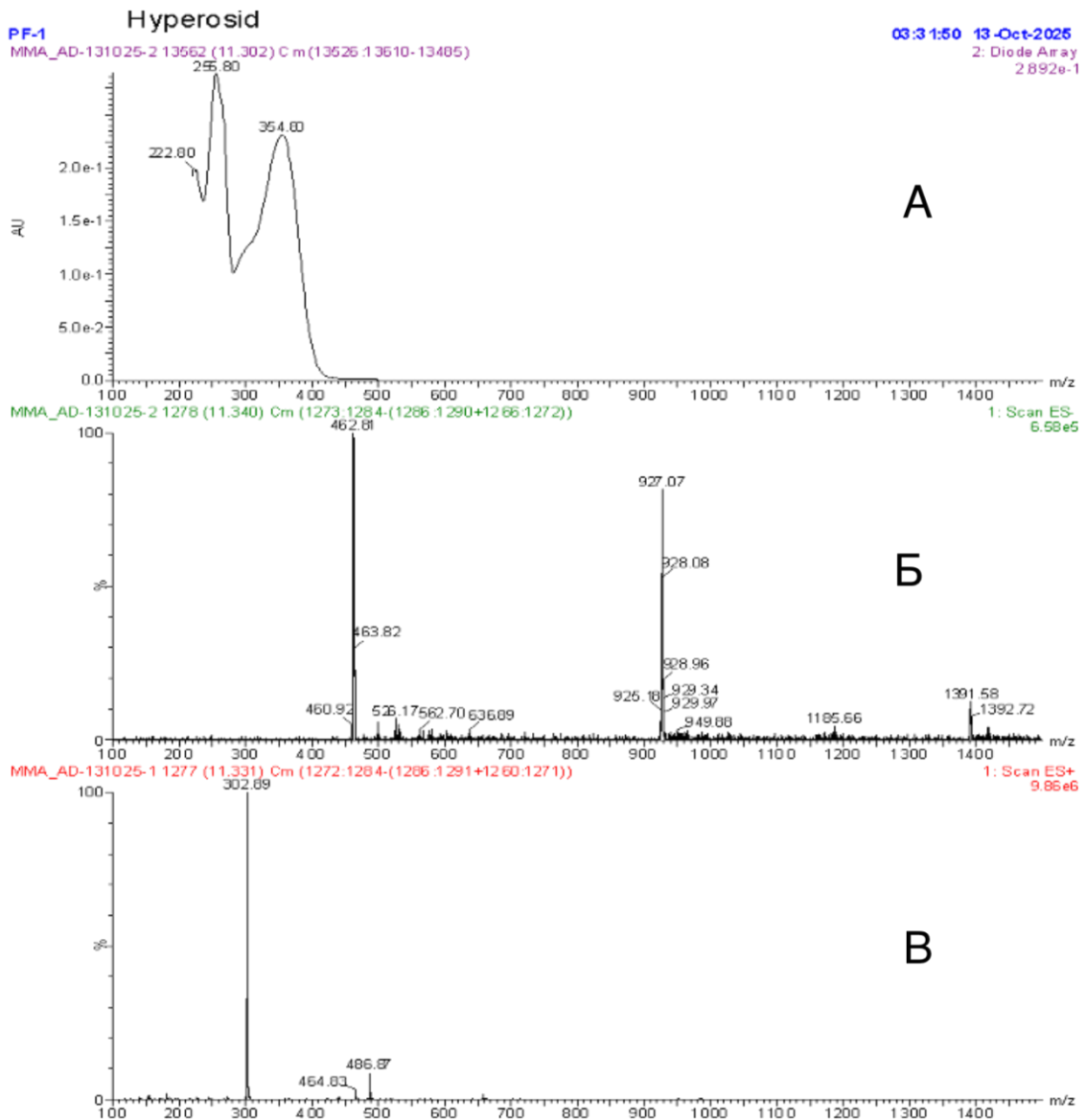


Рисунок 41 – Идентификация пика с временем удерживания 11.30. А – УФ-спектр. Б – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации гликозида. В – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации агликона

Аналогичный характер поглощения с максимумами при 256,8 и 354,8 нм зафиксирован на УФ-спектре гиперозида (Рисунок 41). Проведенный масс-спектрометрический анализ в режиме отрицательной ионизации подтвердил

наличие указанного гликозида и сопутствующего ему агликона кверцетина, что доказывает присутствие гиперозида в цветках.

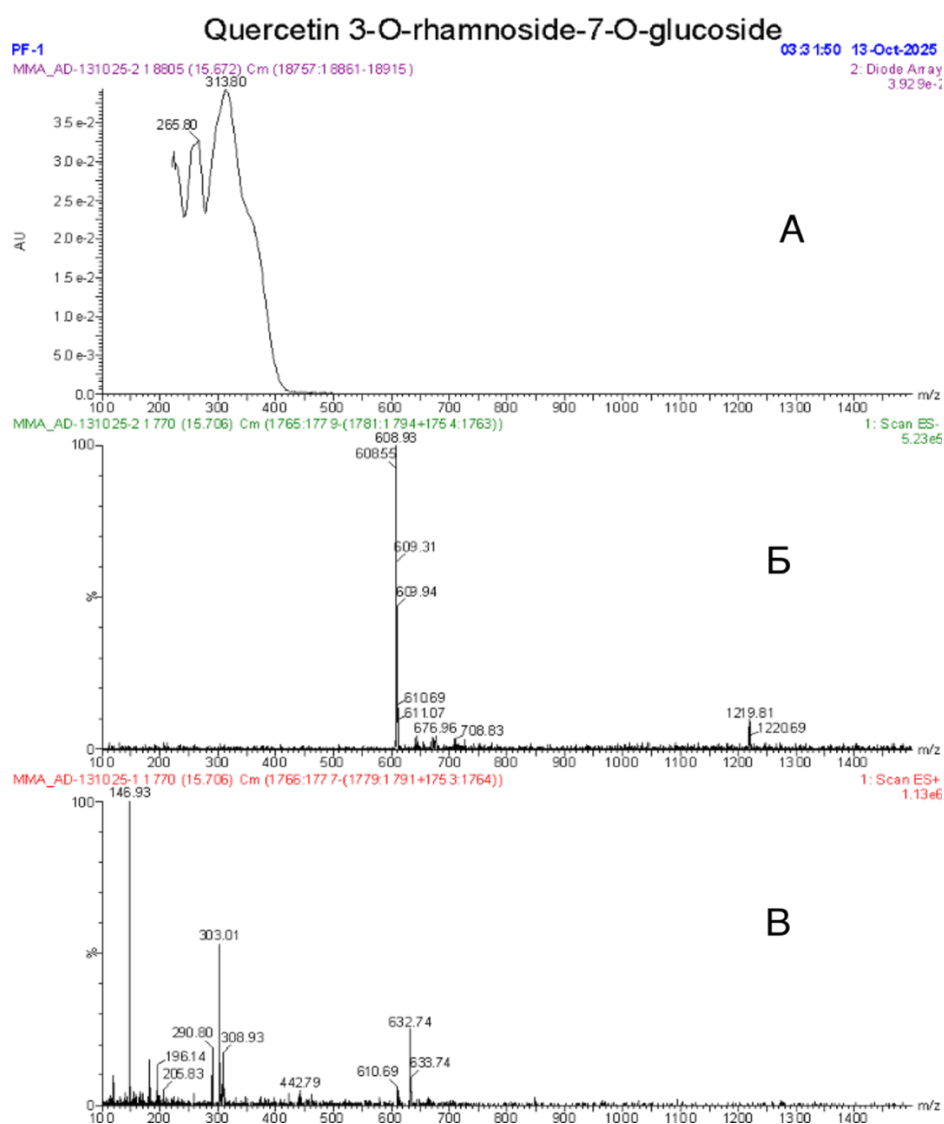


Рисунок 42 – Идентификация пика с временем удерживания 15.67: А - УФ-спектр. Б – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации гликозида. В – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации агликона

Представленный на Рисунке 42 УФ-спектр характеризуется наличием максимумов поглощения при длинах волн 265,8 нм и 313,8 нм, что характерно для кверцетин-3-*O*- α -*D*-рамнопиранозид-7-*O*- β -*D*-глюкпиранозид [102]. Данные результаты полностью согласуются с масс-спектрометрическим анализом в режиме отрицательной ионизации, где регистрируется интенсивный пик депротонированного молекулярного иона с $m/z = 608,9$. Таким образом, кверцетин-

3-*O*- α -*D*-рамнопиранозид-7-*O*- β -*D*-глюкопиранозид выявлен в составе цветков [83].

Пики, содержащие одинаковый ион фрагмента с массой 317 в позитивном режиме ионизации, сходный УФ-спектр с максимум около 350 нм, являются производными изорамнетина. Позиции гликозилирования и углеводный состав компонентов были выбраны на основании анализа литературных данных.

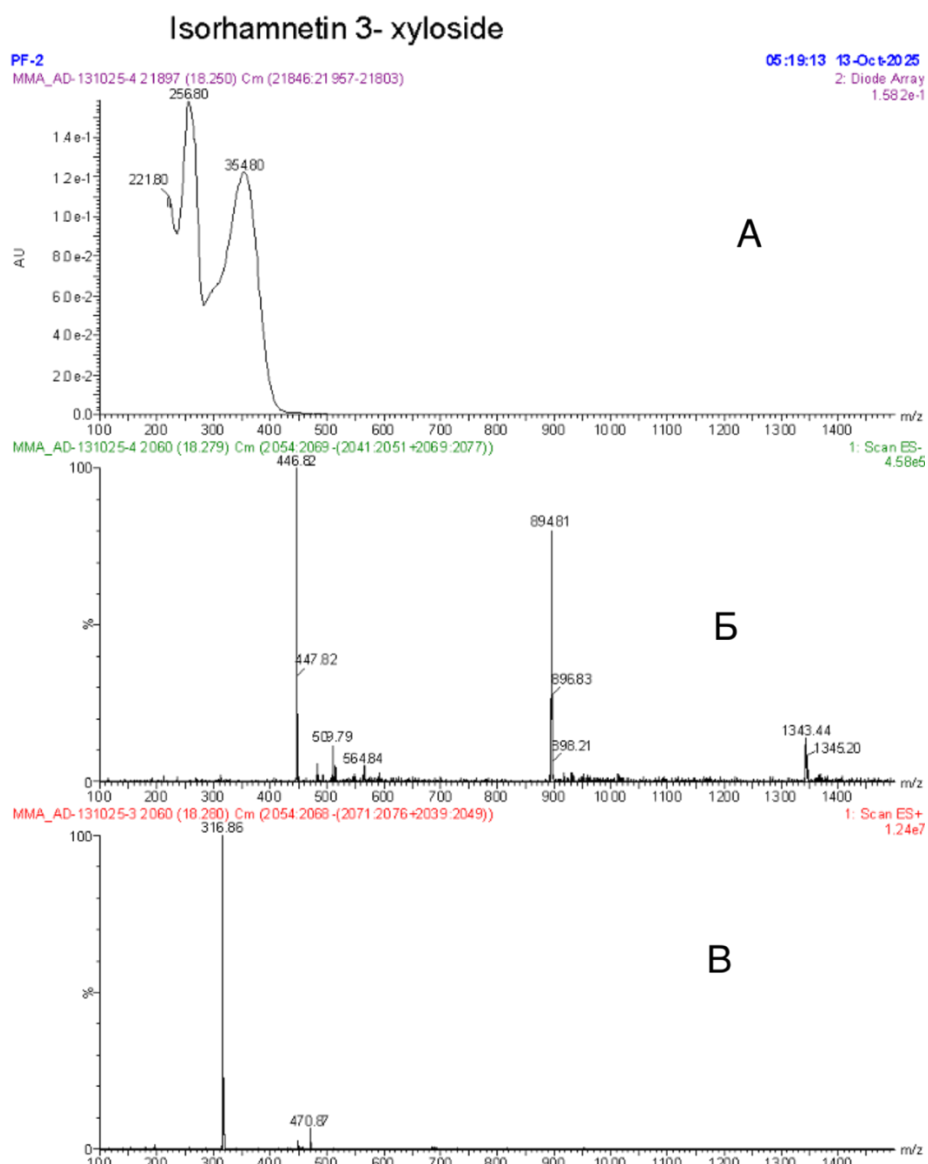


Рисунок 43 – Идентификация пика с временем удерживания 18.26: А – УФ-спектр. Б – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации гликозида. В – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации агликона

На основании совокупности полученных спектральных характеристик (Рисунок 43) изорамнетин-3-*O*- β -*D*-ксилопиранозид был идентифицирован в листьях и стеблях.

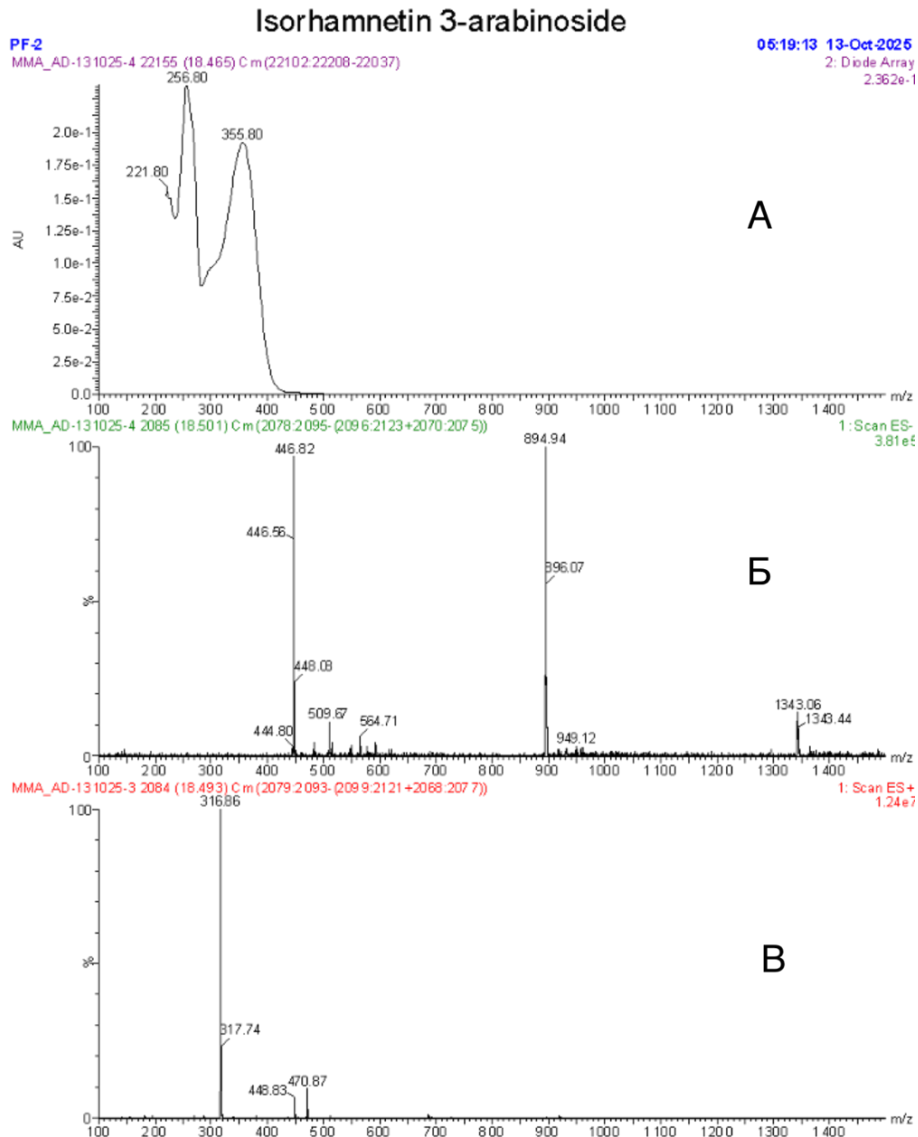


Рисунок 44 – Идентификация пика с временем удерживания 18.49: А – УФ-спектр. Б – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации гликозида. В – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации агликона

Изорамнетин-3-*O*- α -*L*-арабинофуранозид был идентифицирован в листьях и стеблях (Рисунок 44).

Пик, содержащий ион фрагмента с массой 287 в позитивном режиме ионизации, УФ-спектр с максимум около 350 нм, является производным

кемферола. Позиции гликозирования и углеводный состав были выбраны на основании анализа литературных данных [83].

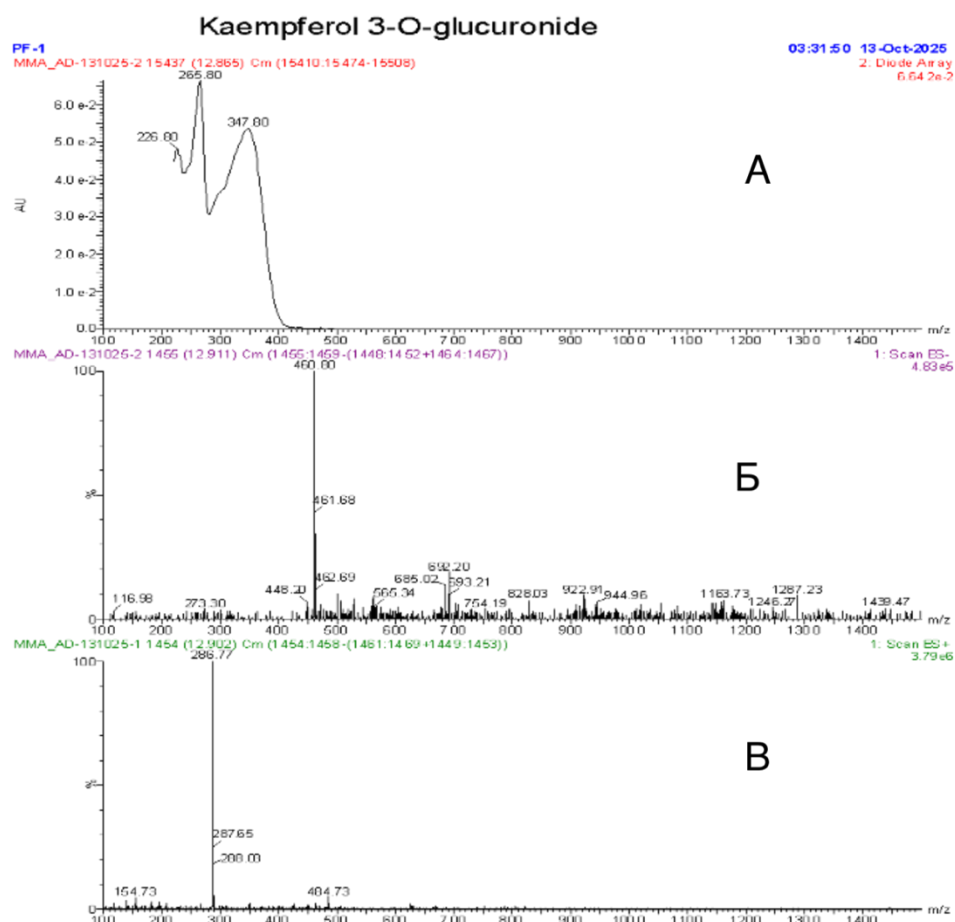


Рисунок 45 – Идентификация пика с временем удерживания 12.86: А – УФ-спектр. Б – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации гликозида. В – Масс-спектр в режиме отрицательной ионизации агликона.

Идентифицированный кемпферол-3-*O*- β -*D*-глюкуронид был обнаружен в составе цветков (Рисунок 45).

4.5 Выводы к Главе 4

1. Проведено изучение качественного состава БАВ побегов, листьев и цветков курильского чая заготовленных от культивируемых растений Московской

и Тверской областей. Установлено наличие флавоноидов, органических и аминокислот, дубильных веществ и полисахаридов.

2. Выявлена строгая органоспецифичность локализации отдельных метаболитов. Предложены методы идентификации БАВ сырья курильского чая с использованием методов ВЭЖХ, ТСХ, ЖХ-МС. На основании результатов проведенных хроматографических исследований в стеблях идентифицированы процианидин В1, изорамнетин-3-*O*- α -*L*-рамнопиранозид. В цветках исключительно накапливаются 1,6-бис-*O*-галлоил- β -*D*-глюкопираноза, рутин, гиперозид, кемпферол-3-*O*- β -*D*-глюкуронид, кверцетин-3-*O*- α -*D*-рамнопиранозид-7-*O*- β -*D*-глюкопиранозид. В листьях обнаружены 1,2,6-тригаллоилглюкопираноза, 1,3,6-тригаллоилглюкопираноза, 1,2,3,6-тетрагаллоилглюкопираноза, кверцетин-3-*O*-(6'-*O*-галлоил)- β -*D*-глюкопиранозид), 1,3,4,6-тетрагаллоилглюкопираноза.

3. Выполнена оценка содержания экстрактивных веществ в анализируемых образцах. Исследование проводилось в строгом соответствии с методикой ОФС.1.5.3.0006. В роли экстрагентов были использованы вода очищенная, хлороформ, гексан, ацетонитрил, а также этиловый спирт различной концентрации (45 %, 70 %, 95 %). Установлено, что оптимальным экстрагентом является 70% этиловый спирт, обеспечивающего максимальный выход целевых компонентов (из листьев - $32,38 \pm 0,24$, из полуодревесневших побегов - $26,06 \pm 0,14$, из цветков - $29,24 \pm 0,14$).

4. Проведен качественный и количественный аминокислотный анализ, показавший наличие 17 аминокислот (Аспарагиновая кислота, Треонин, Серин, Глутаминовая кислота, Пролин, Глицин, Аланин, Валин, Метионин, Изолейцин, Лейцин, Тирозин, Фенилаланин, Оксализин, Лизин, Гистидин, Аргинин) в исследуемом сырье, причем в цветках, листья, побегах присутствуют 9 незаменимых аминокислот. Предложен метод ионообменной хроматографии с использованием постколоночной дериватизации. Для всех исследуемых образцов было определено количественное содержание аминокислотного комплекса, которое распределилось следующим образом: в листьях — 7,5 %, в цветках — 4,3 %, а в побегах — 2,0 %.

5. Установлен методом ТСХ состав органических кислот, представленный лимонной, щавелевой и яблочной кислотами. Количественное определение свободного содержания органических кислот в пересчете на яблочную кислоту осуществляли методом прямого алкалиметрического титрования в соответствии с требованиями ФС.2.5.0093.18 «Рябины обыкновенной плоды». Установлено, что содержание свободных органических кислот в цветках составило $2,89 \pm 0,02$ %, в листьях – $2,32 \pm 0,02$ %, в побегах – $1,99 \pm 0,038$ %.

6. Выявлено, что содержание полифенольных веществ в побегах курильского чая составляет $8,1\% \pm 0,08$.

7. Установлено, что динамика накопления дубильных веществ определяется местом произрастания и фазой вегетации растения. Показано, что максимальное содержание дубильных веществ достигается в цветках в фазу цветения ($12,21 \pm 0,03$ %), в листьях – в фазу бутонизации ($11,68 \pm 0,03$ %), в побегах – в фазу цветения ($9,91 \pm 0,03$ %).

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА НОРМАТИВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ СТАНДАРТИЗАЦИИ ПОБЕГОВ КУРИЛЬСКОГО ЧАЯ

5.1 Установление показателей качества в сырье курильского чая

Для установления подлинности и доброкачественности ЛРС были изучены основные числовые показатели. В перечень анализируемых характеристик вошли: потеря массы при высушивании (Влажность), содержание зол, измельченность, наличие органических и минеральных примесей и микробиологическая чистота. Влажность определяли согласно требованиям ОФС.1.5.3.0007 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Содержание общей золы и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, устанавливали в соответствии с ОФС.1.2.2.2.0013 и ОФС.1.5.3.0005 соответственно. Измельченность и содержание примесей оценивали по методике ОФС.1.5.3.0004. Метрологические характеристики методики определения доброкачественности отражены в Таблице 32, а результаты определения показателей и нормы качества в Таблице 33. Анализ микробиологических показателей выполнялся с опорой на методические указания и требования ОФС.1.2.4.0002.15 [17, 36].

Таблица 32 – Числовые показатели качества побегов курильского чая

Числовые показатели качества	Содержание	Метрологические характеристики методики
Влажность, %	12,45 12,34 12,38 12,33 12,41	$x_{cp} = 12,382$ $S \approx 0,049699095$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0222$ $t = 2,78$ $E \approx 0,50$ $\delta X \approx 0,0618$

Продолжение Таблицы 32

Зола общая, %	3,54 3,50 3,49 3,52 3,51	$x_{cp} = 3,512$ $S \approx 0,019235384$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0086$ $t = 2,78$ $E \approx 0,0068$ $\delta X \approx 0,0239$
Зола, нерастворимая в кислоте хлористоводородной 10%, %	0,57 0,63 0,67 0,60 0,61	$x_{cp} = 0,616$ $S \approx 0,037148351$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0166$ $t = 2,78$ $E \approx 7,50$ $\delta X \approx 0,0462$
Частиц, не прошедших сито с размером отверстий 5 мм, %	4,97 4,88 4,83 4,94 4,90	$x_{cp} = 4,904$ $S \approx 0,054129474$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0242$ $t = 2,78$ $E \approx 1,37$ $\delta X \approx 0,0673$
Частиц, прошедших сито с размером отверстия 0,2 мм, %	0,62 0,61 0,60 0,61 0,65	$x_{cp} = 0,618$ $S \approx 0,019235384$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0086$ $t = 2,78$ $E \approx 3,87$ $\delta X \approx 0,0239$
Другие части растения (стебли не олиственные), %	7,31 7,58 7,45 7,38 7,52	$x_{cp} = 7,448$ $S \approx 0,107563934$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0481$ $t = 2,78$ $E \approx 1,80$ $\delta X \approx 0,1337$
Части других неядовитых растений (органическая примесь), %	0,15 0,21 0,22 0,17 0,19	$x_{cp} = 0,188$ $S \approx 0,028635642$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0128$ $t = 2,78$ $E \approx 18,94$ $\delta X \approx 0,0356$

Продолжение Таблицы 32

Минеральная примесь (песок, мелкие камешки, частички почвы), %	0,45	$x_{cp} = 0,404$ $S \approx 0,032093613$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0144$ $t = 2,78$ $E \approx 9,88$ $\delta X \approx 0,0399$
	0,42	
	0,38	
	0,37	
	0,40	

Таблица 33 – Показатели и нормы качества побегов курильского чая [23, 102]

Показатель	Полученные результаты, %	Рекомендованная норма, для проекта фармакопейной статьи, %
Экстрактивные вещества, извлекаемые 70% этиловым спиртом	25,8-26,1	Не менее 26,0
Влажность(потеря в массе при высушивании)	12,3-12,4	Не более 13,0
Зола общая	3,4-3,5	Не более 4,0
Зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты	0,6-0,7	Не более 1,0
Частиц, не прошедших сито с размером отверстий 5 мм	4,8-5	Не более 5,0
Частиц, прошедших сито с размером отверстия 0,2 мм, %	0,60-0,65	Не более 1
Другие части растения (стебли не олиственные)	7,3-7,6	Не более 8,0
Органическая примесь (части других неядовитых растений)	0,1-0,2	Не более 1,0
Минеральная примесь (песок, мелкие камешки, частички почвы)	0,3-0,5	Не более 0,5
Содержание радионуклидов (Sr-90)	Не обнаружено	28,63–39,72 Бк/кг(л)

5.2 Приготовление и анализ водных извлечений из побегов *Potentilla fruticosa* (L.)

Учитывая высокую концентрацию полифенольных соединений в *Potentilla fruticosa* (L.), а также широкое применение данного сырья в пищевой промышленности и в качестве основы для чайных напитков, было целесообразно провести оценку показателей качества водного извлечения из побегов *Potentilla fruticosa* (L.).

Водное извлечение представляет собой прозрачную жидкость темно-коричневого цвета со специфическим ароматным (смолистым) запахом и горьким, немного вяжущим вкусом. Внешний вид полученного извлечения представлен на Рисунке 46.

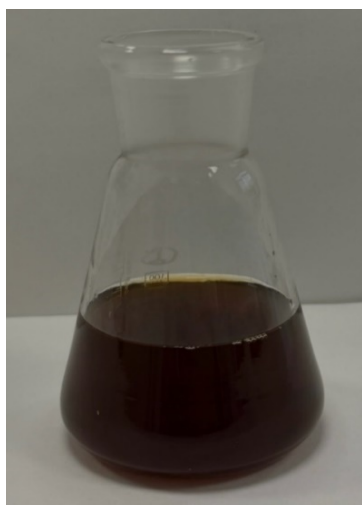


Рисунок 46 – Водное извлечение из побегов *Potentilla fruticosa* (L.)

Для подтверждения наличия групп БАВ в извлечении проведены качественные реакции на дубильные вещества (с железоаммонийными квасцами, растворами желатина и антипирина) и флавоноиды (цианидиновая проба, реакции с раствором гидроксида натрия и спиртовым раствором хлорида алюминия). Положительные результаты всех указанных реакций подтвердили наличие данных групп биологически активных веществ в водном извлечении. Результаты

содержание дубильных веществ в водном извлечении побегов *Potentilla fruticosa* (L.) описаны в Таблице 34 [67, 69, 80].

Таблица 34 – Результаты определения дубильных веществ в водном извлечении побегов курильского чая

Объект исследования	Содержание дубильных веществ, %	Метрологические характеристики	Рекомендуемый показатель, %
Водное извлечение из курильского чая сорта «Голдстар»	0,45 0,47 0,48 0,44 0,46	$x_{cp} = 0,46$ $S \approx 0,015811388$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0071$ $t = 2,78$ $E \approx 4,27$ $\delta X \approx 0,0197$	Не менее 0,3
Водное извлечение из курильского чая, собранного в Ботаническом саду Сеченовского университета (г. Москва)	0,42 0,41 0,43 0,40 0,47	$x_{cp} = 0,426$ $S \approx 0,027018512$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0121$ $t = 2,78$ $E \approx 7,89$ $\delta X \approx 0,0336$	
Водное извлечение из курильского чая компании «Русские корни»	0,38 0,39 0,36 0,35 0,37	$x_{cp} = 0,37$ $S \approx 0,015811388$ $S_{x_{cp}} \approx 0,0071$ $t = 2,78$ $E \approx 5,31$ $\delta X \approx 0,0197$	

Полученные данные свидетельствуют о том, что водное извлечение может рассматриваться как источник дубильных веществ.

5.3 Выводы к Главе 5

1. Определены показатели качества побегов курильского чая. По результатам проведенных экспериментов были установлены критерии доброкачественности

сырья, включая влажность, общую и нерастворимую в хлористоводородной кислоте золу, измельченность и чистоту (микробиологическую, а также отсутствие посторонних примесей). Данные параметры послужили фундаментом для разработки нормативных допусков в создаваемой документации.

2. Установлены, путем проведения серии фармакопейных качественных реакций, присутствие комплекса флавоноидов и дубильных веществ в анализируемом извлечении. Количественное определение дубильных веществ проведено методом перманганатометрии. Также приведено описание внешнего вида полученного извлечения, определен диапазон значений рН и содержание сухого остатка. Полученные данные демонстрируют возможность использования побегов *Potentilla fruticosa* (L.) для получения водных извлечений с целью их последующего применения в медицинской практике в качестве источника дубильных веществ.

ГЛАВА 6. ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

6.1 Изучение антибактериальной и антимикотической активности

Согласно данным научной литературы, ЛРС может быть более контаминировано микрофлорой по сравнению с препаратами синтетического происхождения, а также может быть переносчиком микроорганизмов и конидий грибов. Это оказывает существенное влияние на качество самого ЛРС и препаратов, получаемых на его основе, что обуславливает необходимость оценки риска микробиологического загрязнения ЛРС в общей системе контроля качества.

Нами было проведено определение микробиологической чистоты проб побегов *Potentilla fruticosa* (L.), заготовленных в различных районах Тверской и Московской областей. Исследование выполнялось чашечным агаровым двухслойным методом в соответствии с требованиями ГФ РФ XV изд. и Фармакопеи ЕАЭС с использованием регламентированных питательных сред. Результаты проведенных исследований, демонстрирующие микробиологическую чистоту побегов *Potentilla fruticosa* (L.), представлены в Таблице 35.

Таблица 35 – Микробиологическая частота побегов *Potentilla fruticosa* (L.) [102]

Аэробные бактерии	1,0*10 ⁵ -1,5*10 ⁵	1,0*10 ⁵ -1,5*10 ⁵
Дрожжевые и плесневые грибы	1,1*10 ² -1,6*10 ²	1,1*10 ² -1,6*10 ²
<i>Escherichia coli</i>	0,2*10 ⁰ -0,8*10 ⁰	0,2*10 ⁰ -0,8*10 ⁰
Семейства <i>Enterobacteriaceae</i>	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Staphylococcus aureus</i>	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Salmonella</i>	Не обнаружено	Не обнаружено

Антимикробные свойства исследуемых объектов оценивали по методу диффузии в агар, соблюдая регламентированные условия эксперимента. Объектами исследования служили водные извлечения, полученные из различных

морфологических групп сырья курильского чая: молодых и одревесневших побегов, листьев и цветков. Пробоподготовку осуществляли согласно ОФС.1.2.4.0010 [4, 15].

Для культивирования *Staphylococcus aureus* наиболее подходящим оказался классический мясопептонный агар (МПА). Выращивание *Escherichia coli* проводили на среде Эндо, в состав которой, помимо основы МПА, включены лактоза, краситель и сульфит натрия. Выявление и изучение морфологии *Candida albicans* выполняли с использованием агара Сабуро, содержащего глюкозу и пептон в качестве ключевых источников питания.

Подготовку чашек Петри проводили путем внесения стерильной питательной среды, контаминированной соответствующими микроорганизмами. На подсушенный агаровый слой помещали диски-индикаторы, содержащие испытуемые и контрольные пробы (изотонический раствор). После суточного термостатирования при температуре 35 °С определяли радиус задержки роста и жизнедеятельности микроорганизмов (Рисунок 47). Результаты антимикробного действия извлечений из сырья курильского чая продемонстрированы в Таблице 36.

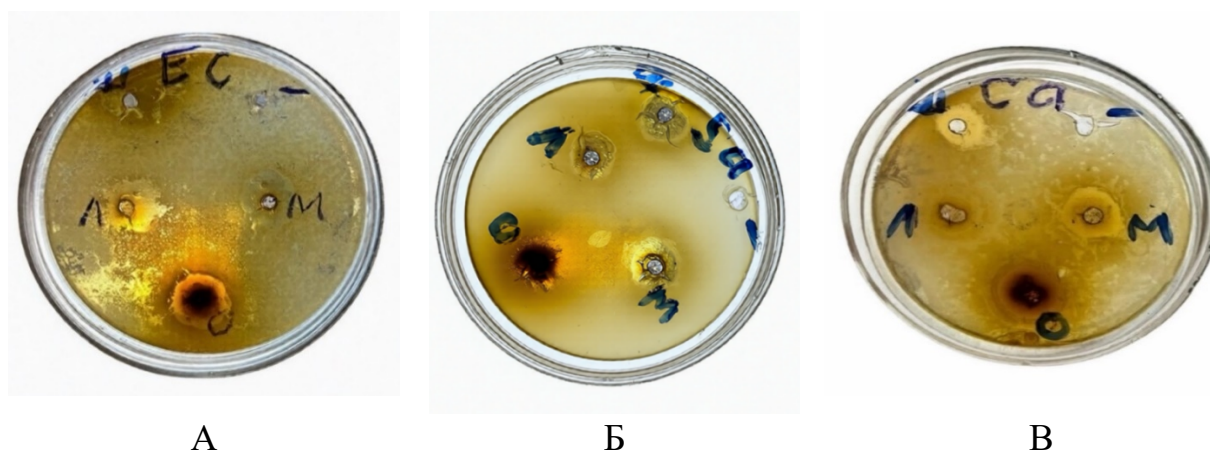


Рисунок 47 – Результаты микробиологических тестов по оценке подавления роста *E. coli* (А), *S. aureus* (Б) и *C. albicans* (В) под влиянием различных частей курильского чая: Ц – цветки; Л – листья; О – одревесневшие побеги; М – молодые побеги

Таблица 36 – Влияние извлечений из листьев, цветков и побегов *Potentilla fruticosa* (L.) на рост тест-культур микроорганизмов

Тест-микроорганизм	Питательная среда	Радиус зоны подавления роста, мм			
		Листья	Цветки	Молодые побеги	Одревесневшие побеги
<i>Escherichia coli</i> 675	Эндо	20	18	20	17
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	МПА	17	16	16	17
<i>Candida albicans</i>	Сабуро	18	18	17	16

Установлено, что все анализируемые извлечения обладают выраженным антибактериальным и фунгистатическим действием. Активность зафиксирована в отношении грамположительных бактерии (*S. aureus*), грамотрицательных бактерий (*E. coli*), а также дрожжеподобных грибов *C. albicans* [102]. Это было видно по формированию зон задержки роста вокруг лунок с извлечениями в соответствующих культурах. Диаметр зон задержки роста составлял от 16 до 20 мм, в случае отрицательного контроля (изотонический раствор) подобная зона отсутствовала. Корреляцию между диаметром зоны задержки роста и экстрактом или микроорганизмом выявить не удалось.

6.2 Выводы к Главе 6

1. Выявлено, что микробиологическая чистота побегов *Potentilla fruticosa* (L.) не превышает допустимые нормативы, что предполагает наличие у исследуемого сырья собственного антимикробного действия.

2. Установлено, что извлечения из листьев, цветков, молодых и одревесневших побегов *Potentilla fruticosa* (L.) обладают антибактериальной активностью против *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, а также антимикотическим действием по отношению к *Candida albicans*. Наибольшую эффективность проявили водные извлечения из листьев и молодых побегов курльского чая в тестах с *E. coli*, где радиус зоны подавления роста составил 20

мм. Фунгистатический эффект против грибов рода *Candida* в максимальной степени (зона задержки роста 18 мм) продемонстрировали извлечения из листьев и цветков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В диссертационной работе представлено комплексное изучение побегов *Potentilla fruticosa* (L.), на основании которого предложены методы идентификации и оценки показателей качества, позволяющие осуществить стандартизацию исследуемого сырья. Кроме того, в ходе экспериментов было выявлено антимикробное действие извлечений из побегов в отношении используемых в эксперименте тест-культур *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и антимикотический эффект против *Candida albicans*. В ходе исследования были использованы как рутинные, так и современные физико-химические методы анализа, позволившие определить в сырье такие группы БАВ, как флавоноиды, органические кислоты и аминокислоты, дубильные вещества и полисахариды. На основании проведенных исследований установлены морфологические и микро - диагностические признаки побегов курильского чая, предложены методы идентификации и количественного определения биологически активных веществ, а также товароведческие показатели, включенные в проект Фармакопейной статьи.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Выполнен информационно-аналитический поиск, продемонстрировавший необходимость дальнейшего изучения БАВ в сырье *Potentilla fruticosa* (L.) с последующей разработкой показателей качества.

2. Проведен морфолого-анатомический анализ *Potentilla fruticosa* (L.), детализированы ключевые показатели подлинности сырья в различных формах (цельной, измельченной и порошкообразной). Установлено, что диагностическое значение для идентификации имеют макроскопические параметры – парноперистое строение листовой пластинки, воронковидный венчик и специфический аромат, – а также особенности микроскопического строения: извилистостенность клеток эпидермиса, характерное опушение и присутствие в тканях кристаллов оксалата кальция.

3. Изучен состав БАВ с применением комплекса современных инструментальных методов анализа. В сырье идентифицированы и количественно определены вещества флавоноидной природы: процианидин В1, 1,6-бис-*O*-галлоил- β -*D*-глюкопираноза, процианидин В3, катехин, 1,2,6-тригаллоилглюкопираноза, 2,4,6-тригаллоилглюкопираноза, 1,3,6-тригаллоилглюкопираноза, 1,2,3,6-тетрагаллоилглюкопираноза, кверцетин-3-*O*-(6'-*O*-галлоил)- β -*D*-глюкопиранозид), 1,3,4,6-тетрагаллоилглюкопираноза, рутин, гиперозид, изокверцитрин, кверцетин-3-*O*- β -*D*-ксилопиранозид, кверцетин-3-*O*- α -*L*-арабинофуранозид, кемпферол-3-*O*- β -*D*-глюкуронид, кверцетин-3-*O*- α -*D*-рамнопиранозид-7-*O*- β -*D*-глюкопиранозид, изорамнетин-3-*O*- α -*L*-рамнопиранозид, изорамнетин-3-*O*- β -*D*-глюкопиранозид, изорамнетин-3-*O*- β -*D*-ксилопиранозид, изорамнетин-3-*O*- α -*L*-арабинофуранозид. Проведена оценка содержания полисахаридного комплекса, кроме того, было выявлено и идентифицировано 17 аминокислот, из которых 9 незаменимых.

4. Предложены и обоснованы методы идентификации и количественного определения основных БАВ побегов курильского чая, позволяющие осуществлять стандартизацию нового растительного сырья. В ходе работы экстрактивные

вещества исследованы с помощью весового метода, сумма полисахаридов оценена методом гравиметрии, дубильные вещества определены методом перманганатометрии, фенольные соединения проанализированы спектрофотометрическим методом с реактивом Фолина-Чокальтеу. Разработанные аналитические подходы успешно прошли процедуру валидации, что подтверждает их точность, линейность и правильность для контроля качества сырья.

5. Установлены числовые показатели качества побегов курильского чая, такие как влажность, общая зола, зола нерастворимая в хлористоводородной кислоте, степень измельчения и допустимые примеси. Изучена антибактериальная и антимикотическая активность против микроорганизмов нормальной флоры человека: *Staphylococcus aureus* (+), *Escherichia coli* (–) и фунгистической активности в отношении грибов вида *Candida albicans*, что позволяет рассматривать сырье в качестве природного источника с антибактериальными свойствами.

6. Разработан проект фармакопейной статьи «Лапчатки кустарниковой побеги» (Приложение Г).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные данные открывают новые возможности для фитохимического анализа близкородственных видов *Potentilla*, дифференциация которых по стандартным морфолого-анатомическим характеристикам остается проблематичной.

Результаты исследования создают предпосылки для разработки новых фармацевтических продуктов из побегов курильского чая. Дальнейшие шаги, включающие валидацию методов контроля и комплексную оценку безопасности (проведение доклинических исследований), позволят внедрить в медицинскую практику эффективные препараты растительного происхождения. Проведенные исследования могут использоваться для последующего совершенствования методов определения подлинности и доброкачественности побегов курильского чая, а также разрабатываемых на их основе лекарственных средств антимикробного и антимикотического действия.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные данные открывают новые возможности для фитохимического анализа близкородственных видов *Potentilla*, дифференциация которых по стандартным морфолого-анатомическим характеристикам остается проблематичной.

Результаты исследования создают предпосылки для разработки новых фармацевтических продуктов из побегов курильского чая. Дальнейшие шаги, включающие валидацию методов контроля и комплексную оценку безопасности (проведение доклинических исследований), позволят внедрить в медицинскую практику эффективные препараты растительного происхождения. Проведенные исследования могут использоваться для последующего совершенствования методов определения подлинности и доброкачественности побегов курильского чая, а также разрабатываемых на их основе лекарственных средств антимикробного и антимикотического действия.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БАВ – биологически активные вещества

БАД – биологически активные добавки

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГОСТ – Государственный Стандарт

ГРЛС – Государственный реестр лекарственных средств

ГФ РФ – Государственная Фармакопея Российской Федерации

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ЖХ-МС – жидкостная хроматография — масс-спектрометрия

ЛРС – лекарственное растительное сырье

МПА – мясопептонный агар

МС – масс-спектрометрия

МШ – микрошприц

ООО – общество с ограниченной ответственностью

ОФС – общая фармакопейная статья

ПК – производственная компания

ПФ – подвижная фаза

СО – стандартный образец

ТСХ – тонкослойная хроматография

ТУ – техническое условие

у.е. – условные единицы

УФ – ультрафиолетовый

ФС – фармакопейная статья

APG IV – современная таксономическая система классификации цветковых растений

АТСС – американская коллекция типовых культур

POWO (Plants of the World Online) – базе данных семенных растений

Rf – коэффициент удерживания/подвижности

TQD – тандемный квадрупольный детектор

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулгафарова, Г. Х. Хромато-масс-спектрометрия / Г. Х. Абдулгафарова, Р. Р. Газетдинов // Вестник магистратуры. – 2023. – № 10-1 (145). – С. 13-14.
2. Аймасова, В. Изучение фенольных и полифенольных соединений коры и листьев черемухи обыкновенной (*Rudus avium* Mill.), произрастающей в Московской области / В. Аймасова, Е. Н. Костикова // Новейшие зарубежные и отечественные лекарственные препараты: фармакотерапия, фармакодинамика, фармакокинетика. – 2020. – № 1. – DOI: 10.33920/med-06-2001-10.
3. Андышева, Е. В. Хемотаксономический анализ фенольных соединений представителей рода *Dasiphora* (*Rosaceae*) российского Дальнего Востока и Восточной Сибири / Е. В. Андышева, Е. П. Храмова // *Botanica Pacifica. A Journal of Plant Science and Conservation*. – 2020. – Т. 9. – № 1. – С. 77-83.
4. Антимикробная активность водно-спиртовых экстрактов представителей рода *Potentilla* L. / Е. Е. Савельева, Н. А. Булгакова, Е. З. Лапкина [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2022. – Т. 11. – № 4. – С. 20-27. – DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-20-27.
5. Безделева, Т. А. Структурно-биологические особенности жизненных форм у некоторых видов рода *Potentilla* (*Rosaceae*) российского Дальнего Востока / Т. А. Безделева // Ботанический сад-институт ДВО РАН. – Владивосток, 2016. – Вып. LXIV. – С. 47-71.
6. Беликов, В. Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. Опыт работы отечественных специалистов / В. Г. Беликов // Российский химический журнал. – 2002. – Т. 46. – № 4. – С. 52-56. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 26.12.2025).
7. Бельмер, С. В. Микроэлементы, пребиотики, кишечная микрофлора, иммунитет / С. В. Бельмер // Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. – 2009. – Т. 87. – № 3. – С. 92-95.
8. Бондаренко, Т. Н. Влияние флавоноидов на показатели клеточного иммунитета у пациентов с острыми респираторными вирусными инфекциями, протекающими

на фоне хронической рецидивирующей крапивницы, до и после лечения / Т. Н. Бондаренко // Health of Society. – 2019. – Т. 8. – № 6. – С. 232-236.

9. Веселова, Ф. А. Экстракт пятилистника кустарникового при экспериментальном дисбактериозе / Ф. А. Веселова // Значение научных студенческих кружков в инновационном развитии агропромышленного комплекса региона : сборник статей / Иркутский государственный аграрный университет. – Иркутск : Иркутский ГАУ, 2022. – С. 143-144.

10. Влияние линимента пятилистника кустарникового на уровень ТБК-активных продуктов и антиоксидантный статус при раневых повреждениях кожи на фоне экспериментального сахарного диабета / В. Е. Хитрихеев, Б. Ц.-Н. Гармаев, М. И. Бальхаев, И. Г. Николаева // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2016. – Т. 1. – № 5 (111). – С. 126-128. – DOI: 10.12737/23403.

11. Влияние мягкой наноформы пятилистника кустарникового на заживление кожно-мышечных ран в эксперименте / Б. Ц.-Н. Гармаев, В. Е. Хитрихеев, М. И. Бальхаев [и др.] // Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов. – 2015. – № 2. – С. 184-189.

12. Ганенко, Т. В. Химический состав *Potentilla fruticosa*. II. Тритерпеноиды / Т. В. Ганенко, А. А. Семенов // Химия природных соединений. – 1989. – Т. 25. – № 5. – С. 727-728.

13. Гончикова, С. Ч. Влияние сухого экстракта пятилистника кустарникового на состояние иммунной системы организма при экспериментальной иммунодепрессии, вызванной противотуберкулезными препаратами / С. Ч. Гончикова, В. Б. Хобракова, О. Д. Цыренжапова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2001. – № 10. – С. 29-31.

14. ГОСТ 24027.2–80. Сырье лекарственное растительное. Методы определения влажности, содержания золы, экстрактивных и дубильных веществ, эфирного масла / Государственный комитет СССР по стандартам. – Москва : Издательство стандартов, 1980. – 15 с. – Утвержден Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 04.07.1980 № 3390 ; дата введения 01.01.1981.

15. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – Москва : ФЭМБ, 2015. – URL: <http://www.femb.ru/feml> (дата обращения: 18.05.2026).
16. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание : в 4 томах / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – Москва : ФЭМБ, 2018. – URL: <http://femb.ru> (дата обращения: 18.05.2026). – Режим доступа: свободный.
17. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV издание : в 2 томах / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – Москва : Минздрав России, 2023–2026. – URL: <http://regmed.ru> (дата обращения: 18.05.2026). – Режим доступа: свободный.
18. Гринкевич, Н. И. Химический анализ лекарственных растений : учебное пособие для фармацевтических вузов / Н. И. Гринкевич, Л. Н. Сафронич ; под редакцией Н. И. Гринкевич. – Москва : Высшая школа, 1983. – 176 с.
19. Деканосидзе, Г. Е. Биологическая роль, распространение и химическое строение тритерпеновых гликозидов / Г. Е. Деканосидзе, В. Я. Чирва, Т. В. Сергиенко. – Тбилиси : Мецниереба, 1984. – 348 с.
20. Доклиническое токсикологическое изучение экстракта из *Pentaphylloides fruticosa* (Rosaceae) / С. М. Николаев, Т. А. Ажунова, И. О. Убашеев [и др.] // Растительные ресурсы. – 2005. – Т. 41. – № 1. – С. 126-130.
21. Досаева, А. Н. Химический профиль отдельных видов лапчатки / А. Н. Досаева, О. В. Нестерова // Scientific Cooperation Center «Interactive plus». – Чебоксары : Интерактив плюс, 2021. – URL: <https://interactive-plus.ru> (дата обращения: 03.05.2025).
22. Доспехов, Б. А. Методика полевого опыта : учебник / Б. А. Доспехов. – Москва : Агропромиздат, 1985. – 351 с.
23. Дудецкая, Н. А. Фармакогностическое изучение травы шлемника обыкновенного *Scutellaria galericulata* L. : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Дудецкая Наталья Александровна; ГОУВПО «Санкт-

Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия». – Санкт-Петербург, 2011. – 194 с.

24. Жарова, О. Г. Стандартизация конского каштана обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) семян и экстракта сухого на их основе : специальность 15.00.02 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Жарова Олеся Глебовна; Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений. – Москва, 2009. – 164 с.

25. Жебентяев, А. И. Химические методы анализа в фармацевтической практике и образовательном процессе / А. И. Жебентяев, И. Н. Дударева // Вестник фармации. – 2023. – № 1 (99). – С. 83-91. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 09.11.2025).

26. Заповедная Коми: где в республике растет куст-могучка / Редакция БНК // ФИЦ Коми НЦ УрО РАН : официальный сайт. – 2024. – 29 октября. – URL: <https://komisc.ru/home/news/komisc-news-2/2764-zapovednaya-komi-gde-v-respublike-rastet-kust-moguchka> (дата обращения: 03.12.2025).

27. Здорик, А. А. Контроль качества растительных препаратов промышленного и аптечного производства с использованием системы ВЭТСХ / А. А. Здорик // Фармацевтическая отрасль. – 2016. – № 6 (59). – С. 84-89.

28. Иванцова, Е. А. Фотоколориметрический метод / Е. А. Иванцова // Проблемы науки. – 2015. – № 1 (1). – С. 15-16. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 26.12.2025).

29. Идентификация органических кислот методом ТСХ в извлечениях из растительных объектов / О. В. Тринеева, И. И. Сафронова, Е. Ф. Сафронова, А. И. Сливкин // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2013. – Т. 13. – № 6. – С. 896-901.

30. Изменение параметров оксидантно-антиоксидантного статуса под действием растительных флавоноидов / И. А. Батанина, Е. Н. Воробьева, Д. С. Бубликов, Г. Г. Соколова // Известия Алтайского государственного университета. – 2011. – № 3–1 (71). – С. 11-14.

31. Изучение компонентного состава полифенолов травы *Pentaphylloides fruticosa* L. / А. Ю. Малютина, А. В. Правлоцкая, О. О. Новиков, Д. И. Писарев // Фармация и фармакология. – 2018. – Т. 6. – № 2. – С. 135-150.
32. Изучение неалкалоидной природы биологически активных соединений *Datura Innoxia* / Э. А. Гараев, А. К. Валиева, А. Н. Карамли, Н. М. Гусейнова // Химия растительного сырья. – 2021. – № 2. – С. 163-172. – DOI: 10.14258/jscrpm.2021027947.
33. Изучение профиля органических кислот видов рода горец (*Persicaria* Mill.) / А. С. Чистякова, А. А. Гудкова, А. И. Сливкин, Е. Е. Чупандина // Фармация и фармакология. – 2022. – Т. 10. – № 1. – С. 44-54. – DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-1-44-54.
34. Изучение состава и количественного содержания полифенольных веществ в жоме плодов граната / О. В. Нестерова, В. Н. Матвеевко, Р. А. Погосян [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2021. – Т. 62. – № 3. – С. 255-259.
35. Ильина, М. Б. Применение тонкослойной хроматографии в анализе биологически активных веществ листьев ежевики сизой (*Rubus caesius* L.) / М. Б. Ильина, Е. В. Сергунова // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : Сборник трудов 9-ой Международной научно-методической конференции. Посвящается 25-летию создания фармацевтического факультета в Воронежском государственном университете, Воронеж, 28–29 сентября 2023 года / Под общей редакцией А.С. Беленовой, А.А. Гудковой, Н.А. Дьяковой. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2023. – С. 263-270. – DOI: 10.17308/978-5-9273-3827-6-2023-263-270.
36. Ильина, М. Б. Фармакогностическое изучение и стандартизация сырья ежевики сизой (*Rubus caesius* L.) : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Ильина Маргарита Борисовна ; Первый Московский государственный медицинский

университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2025. – 150 с.

37. Использование лекарственных растений Алтайского края для коррекции нарушений липидного обмена / Е. Н. Воробьева, В. Ф. Турецкова, Ю. В. Скурятина [и др.] // Современные наукоемкие технологии. – 2005. – № 3. – С. 89-90.

38. Исследование антирадикальной активности растений рода *Potentilla* L. / Е. Е. Савельева, Е. З. Лапкина, Н. А. Булгакова [и др.] // Химия растительного сырья. – 2020. – № 2. – С. 189-196. – DOI: 10.14258/jcprtm.2020026330.

39. Каталог растений для ландшафтного дизайна // Greenmaster.by : сайт. – URL: greenmaster.by (дата обращения: 21.10.2025).

40. Качественный анализ листьев валерианы лекарственной методом тонкослойной хроматографии / А. Ю. Фисюк, О. В. Мушкина, Н. С. Голяк, О. А. Ёршик // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2025. – Т. 15. – № 5. – С. 574-582. – DOI: 10.30895/1991-2919-2025-696.

41. Ковалёва, Н. А. Фармакогностическое изучение облепихи крушиновидной листьев : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Ковалёва Наталья Александровна; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2026. – 282 с.

42. Количественное определение суммы флавоноидов в траве буквицы методом спектрофотометрии / Е. Е. Курдюков, Н. В. Финаёнова, К. А. Фриндак, Ю. А. Селезнева // Международный научно-исследовательский журнал. – 2024. – № 11 (149). – С. 108. – DOI: 10.60797/IRJ.2024.149.39.

43. Комаревцева, Е. К. Онтогенез и структура популяций *Pentaphylloides fruticosa* (*Rosaceae*) Горного Алтая / Е. К. Комаревцева // Растительные ресурсы. – 2005. – Т. 41. – № 1. – С. 27-35.

44. Компанцева, Е. В. Использование метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для идентификации гидроксикоричных кислот в растительном

сырье (обзор). Сообщение 2 / Е. В. Компанцева, А. С. Саушкина // Химия растительного сырья. – 2024. – № 3. – С. 5-27.

45. Кондратова, Ю. А. Тритерпеновые соединения вероники австрийской / Ю. А. Кондратова, О. С. Самофалова, Е. А. Артюшенко // Молодежная наука и современность : материалы 74-й межвузовской итоговой научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной Году молодежи в России (Курск, 21–22 апреля 2009 г.) : в 3 частях. – Курск : КГМУ, 2009. – Ч. 2. – С. 182-183.

46. Корзун, Б. В. Морфобиологические особенности и способы размножения лапчатки кустарниковой (курильского чая) *Potentilla* L. в предгорной зоне Республики Адыгея / Б. В. Корзун, Л. В. Вавилова // Новые технологии. – 2015. – № 3. – С. 132-138. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 24.12.2025).

47. Костенко, М. Ю. Определение качества протравки семян ячменя фотоколориметрическим методом / М. Ю. Костенко, И. М. Салапин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2025. – № 211. – С. 18. – DOI: 10.21515/1990-4665-211-011.

48. Кочетков, Н. К. Химия природных соединений: углеводы, нуклеотиды, стероиды, белки / Н. К. Кочетков, М. М. Ботвиник, И. В. Торгов. – Москва : Издательство Академии наук СССР, 1961. – 560 с.

49. Краснов, Е. А. Физико-химические методы в анализе лекарственных средств : учебное пособие / Е. А. Краснов, А. А. Блиникова. – Томск : СибГМУ, 2011. – 122 с.

50. Крупина, Н. А. Влияние курсового применения биологически active флавоноидсодержащего растительного препарата экстралайф на уровень тревожности и сенсомоторную реактивность крыс / Н. А. Крупина, И. Н. Орлова, Л. Д. Лукьянова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2014. – Т. 58. – № 4. – С. 30-39.

51. Кузнецов, П. В. Именные (цветные) реакции в фармацевтическом и chemical-токсикологическом функциональном анализе : учебное пособие / П. В. Кузнецов. – Кемерово : Кузбассвузиздат, 2016. – 167 с.

52. Кузнецова, Л. В. Влияние флавоноидов на показатели клеточного иммунитета у детей и подростков, которые болеют гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями, до и после лечения / Л. В. Кузнецова // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2017. – Т. 6. – № 3. – С. 429-436.
53. Кузьмина, А. А. Интродукция пятилистника кустарникового *Pentaphylloides fruticosa* на территории учебно-опытного участка МБОУ СОШ д. Новофедоровка Аургазинского района : исследовательская работа / А. А. Кузьмина. – 2018. – URL: <https://unnat.fedcdo.ru/wp-content/uploads/2018/09/KURILSKIJ-ChAJ-rabota.pdf> (дата обращения: 10.06.2025).
54. Курильский чай. Алтайский государственный природный биосферный заповедник : официальный сайт. – 2026. – URL: <https://www.altzapovednik.ru/info/publikacii/zametki-dendrologa/kurilskii-chai.aspx> (дата обращения: 20.10.2025).
55. Курильский чай. «Могучая» трава // Журнал Регион. – 2022. – 12 декабря. – URL: <https://ourreg.ru> (дата обращения: 24.10.2025).
56. Куркин, В. А. Фармакогнозия : учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов) / В. А. Куркин. – 3-е изд., перераб. и доп. – Самара : Офорт : СамГМУ, 2016. – 1279 с.
57. Лапчатка кустарниковая Катерина Дукс (*Katherine Dykes*). Мир растений : сайт. – URL: <https://mir-rast.ru/shop/dekorativnye-kustarniki/potentilla/lapchatka-katherine-dykes> (дата обращения: 10.10.2025).
58. Лапчатка кустарниковая Хоплейс Оранж (*Potentilla fruticosa* Hopleys Orange). Питомник растений «Вашутино» : сайт. – URL: <https://fittonia.ru/lapchatka-kustarnikovaya-khopleys-oranzh> (дата обращения: 10.10.2025).
59. Лоншакова, К. С. Гастропротективное действие экстракта *Pentaphylloides fruticosa* (*Rosaceae*) / К. С. Лоншакова, О. И. Убашеев // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2011. – № 12. – С. 121-125.
60. Микрклональное размножение курильского чая кустарникового (*Dasiphora fruticosa* (L.) Rydb.) с элементами гидропоники / С. С. Макаров, А. Ю. Казиева, Т.

- А. Макарова [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2023. – № 2 (100). – С. 64-71.
61. Микроскопические признаки сырья курильского чая кустарникового / Л. Г. Дворникова, О. Н. Мазко, С. Г. Курбатова, А. С. Бойко // Фармация. – 2023. – Т. 72. – № 5. – С. 12–17. – DOI: 10.29296/25419218-2023-05-02.
62. Мифтахова, С. А. Влияние условий произрастания на содержание флавоноидов у *Pentaphylloides fruticosa* при интродукции и в природе на европейском Севере / С. А. Мифтахова // Самарский научный вестник. – 2020. – Т. 9. – № 4. – С. 104-108. – DOI: 10.17816/snv202094116.
63. Мифтахова, С. А. Особенности строения цветка *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz при интродукции в среднетаежную подзону Республики Коми / С. А. Мифтахова, О. В. Скроцкая // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2015. – Т. 17. – № 5 (1). – С. 138-141. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 24.12.2025).
64. Михалина, А. Д. Качественные реакции для определения дубильных веществ различных химических классов / А. Д. Михалина // Научный журнал молодых ученых. – 2019. – № 2 (15). – С. 83-86. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 14.12.2025).
65. Мусин, И. Н. Приборы и аппаратура для физико-химических методов анализа в медицине / И. Н. Мусин, Ф. С. Шарифуллин, И. С. Разина // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т. 16. – № 4. – С. 195-198. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/pribory-i-apparatura-dlya-fiziko-himicheskikh-metodov-analiza-v-medicine> (дата обращения: 26.12.2025).
66. Мягкие формы *Pentaphylloides fruticosa* L. при раневом повреждении у белых крыс / Б. Ц.-Н. Гармаев, В. Е. Хитрихеев, М. И. Бальхаев, И. Г. Николаева // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 5. – URL: <https://science-education.ru> (дата обращения: 06.03.2025).
67. Некрасова, Д. О. Количественное определение дубильных веществ в майнике двулистном (*Maianthemum bifolium* L.) / Д. О. Некрасова, Д. В. Заяц // Научный журнал. – 2016. – № 5(6). – С. 68-70.

68. Нестеров, Г. В. Изучение показателей качества листьев ольхи видов *Alnus incana* (L.) Moench; *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Нестеров Георгий Викторович; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2025. – 174 с.
69. Нестерова, Н. В. Изучение качественного состава и показателей качества листьев яблони лесной и домашней / Н. В. Нестерова, И. А. Самылина // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т. 18. – № 5. – С. 125-130. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 15.12.2025).
70. Нестерова, Н. В. Сравнительное изучение веществ-маркеров ацетонитриловой фракции листьев и плодов яблони лесной / Н. В. Нестерова, И. А. Самылина, В. Н. Матвеев // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2020. – Т. 61. – № 1. – С. 65-71.
71. Орлова, А. А. Обзор методов качественного и количественного анализа танинов в растительном сырье / А. А. Орлова, М. Н. Повыдыш // Химия растительного сырья. – 2019. – № 4. – С. 29-45. – DOI: 10.14258/jscrpm.2019045233.
72. Орлова, А. А. Химические компоненты *Geum rivale* L. и их биологическая активность / А. А. Орлова, М. Н. Повыдыш // Фармация и фармакология. – 2020. – Т. 8. – № 2. – С. 133–146. – DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-2-133-146.
73. Основы фитохимического анализа : учебное пособие / Р. Г. Фархутдинов, Н. В. Кудашкина, Р. А. Зайнуллин [и др.]. – Уфа : РИЦ БашГУ, 2016. – 288 с. – ISBN 978-5-7477-4096-9.
74. Патент 2109517 С1 Российская Федерация, МПК А61К 35/78. Способ получения средства, обладающего антиаллергической активностью : № 96105073/14 : заявл. 18.03.1996 : опубл. 27.04.1998 / Николаева И. Г., Цыренжапова О. Д., Асеева Т. А. [и др.] ; заявитель и патентообладатель Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН. – Бюл. № 12. – 5 с.

75. Полифенольные соединения *Plantago major* L. и *Plantago lanceolata* / Р. Р. Махмудов, Н. Г. Абдулладжанова, Н. А. Юнусходжаева, Г. Х. Лутпиллаев // Химия растительного сырья. – 2023. – № 1. – С. 139-146. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 26.12.2025). – DOI: 10.14258/jcprgm.20230111166.
76. Полухина, Т. С. Количественное содержание тритерпеновых сапонинов в сырье *Salvia stepposa* Schost / Т. С. Полухина, Н. А. Сальникова, К. Ш. Алахвердиева // Прикаспийский вестник медицины и фармации. – 2021. – Т. 2. – № 4. – С. 36-41. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 14.12.2025).
77. Потентилла кустарниковая «Primrose Beauty» (*Potentilla fruticosa* «Primrose Beauty»). Справочник растений ООО «Мика» : сайт. – URL: https://mikaspb.ru/spravochnik/krasivotsvetushchie-i-dekorativno-listvennie-kustarniki/i_potentilla-kustarnikovaya-primrose-beauty-potentilla-fruticosa-primrose-beauty (дата обращения: 10.10.2025).
78. Практикум по фармакогнозии : учебное пособие для студентов вузов / В. Н. Ковалев, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко [и др.] ; под редакцией В. Н. Ковалева. – Харьков : Золотые страницы : МТК-книга, 2004. – 512 с.
79. Противоэнтеровирусная и иммуномодулирующая активность полифенольного комплекса, экстрагированного из пятилистника кустарникового (*Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz) / А. Н. Евстропов, Л. Г. Бурова, И. А. Орловская [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2004. – Т. 49. – № 6. – С. 30-34.
80. Пугачева, О. В. Фармакогностическое изучение и стандартизация аронии Мичурина листьев : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Пугачева Ольга Валериевна; ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Воронеж, 2025. – 224 с.
81. Развитие микробиологических методов анализа лекарственных средств / О. В. Гунар, Н. Г. Сахно, Е. С. Новик [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2016. – № 1. – С. 48-52. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 26.12.2025).

82. Регистр лекарственных средств России РЛС : сетевое издание. РЛС : сайт. – URL: rlsnet.ru (дата обращения: 07.09.2025). – Зарегистрировано Роскомнадзором, рег. номер: серия Эл № ФС77-85156 от 25.04.2023.
83. Родин, М. Н. Совершенствование методов контроля качества цветков липы, семян льна, слоевищ ламинарии и лекарственных препаратов на их основе : : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Родин Михаил Николаевич; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2025. – 192 с.
84. Самылина, И. А. Фармакогнозия : учебник / И. А. Самылина, Г. П. Яковлев. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 976 с. – ISBN 978-5-9704-3071-2 // ЭБС «Консультант студента» : сайт. – URL: studentlibrary.ru (дата обращения: 17.01.2026). – Режим доступа: для авториз. пользователей.
85. Сергалиева, М. У. Фармакотерапевтический потенциал растений рода *Potentilla* / М. У. Сергалиева, В. Х. Мурталиева, М. А. Самогруева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2024. – Т. 27. – № 8. – С. 3-12. – DOI: 10.29296/25877313-2024-08-01.
86. Сергунова, Е. В. Изучение качественного и количественного состава биологически активных веществ в плодах малины различных способов консервации / Е. В. Сергунова, А. И. Марахова // Аналитика. – 2018. – Т. 8. – № 1 (38). – С. 70-76. – DOI: 10.22184/2227-572X.2018.38.1.70.76.
87. Скляревская, Н. В. Определение суммарного содержания флавоноидов в надземной части *Potentilla argentea* (*Rosaceae*) спектрофотометрическим методом / Н. В. Скляревская, К. В. Попов // Растительные ресурсы. – 2013. – Т. 49. – № 2. – С. 287-291.
88. Скляревская, Н. В. Стандартизация травы лапчатки серебристой / Н. В. Скляревская, К. В. Попов // Фармация. – 2013. – № 5. – С. 12-14.
89. Совершенствование методов стандартизации лекарственного растительного сырья / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Кондратова, Р. А. Бубенчиков [и др.] //

Фармацевтическое образование, наука и практика: горизонты развития : материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 50-летию фармацевтического факультета КГМУ (Курск, 2016 г.) / под редакцией В. А. Лазаренко [и др.] ; Курский государственный медицинский университет. – Курск : КГМУ, 2016. – С. 438-444.

90. Соколенко, О. А. Морфогенез цветков и соцветий *Potentilla fruticosa* L. / О. А. Соколенко, В. М. Триль // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2004. – № 1. – С. 77-81. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 24.12.2025).

91. Соколов, С. Я. Род *Dasiphora* Raf. Курильский чай / С. Я. Соколов, О. А. Связева, В. А. Кубли // Ареалы деревьев и кустарников СССР : в 3 томах / Академия наук СССР, Ботанический институт им. В. Л. Комарова. – Ленинград : Наука, Ленинградское отделение, 1980. – Т. 2 : Розоцветные. – Губоцветные. – С. 85-86.

92. Соколова, А. Н. Количественное определение полифенольных веществ в побегах курильского чая (*Dasiphora fruticosa* L.) / А. Н. Соколова, О. В. Нестерова, Н. В. Нестерова // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2025. – Т. 27. – № 10. – С. 153-160. – URL: <https://clinical-journal.com> (дата обращения: 10.12.2025). – DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2025-27-10-153-160.

93. Соколова, А. Н. Оценка накопления дубильных веществ в траве *Dasiphora fruticosa* (L.), произрастающем в разных районах Московской и Тверской областей / А. Н. Соколова, О. В. Нестерова, Н. В. Нестерова // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2025. – Т. 27. – № 3. – С. 113-117. – DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2025-27-3-113-117.

94. Соколова, А. Н. Оценка содержания суммы органических кислот в сырье курильского чая (*Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz) / А. Н. Соколова, О. В. Нестерова, Н. В. Нестерова // Фармацевтическое дело и технология лекарств. – 2025. – № 6 (36). – С. 9-19. – DOI: 10.33920/med-13-2506-01.

95. Соколова, А. Н. Разработка макро- и микродиагностических признаков в листьях курильского чая / А. Н. Соколова, О. В. Нестерова // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2025. – Т. 27. – № 10. – С. 141-146. – URL:

<https://clinical-journal.com> (дата обращения: 10.12.2025). – DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2025-27-10-141-146.

96. Соленова, Е. А. Антибактериальные и иммуномодулирующие эффекты флавоноидов / Е. А. Соленова, С. И. Павлова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83. – № 10. – С. 33-39. – DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-10-33-39.

97. Солохина, И. Ю. Исследование тритерпеновых сапонинов, полученных из корней овса посевного *Avena sativa* L. / И. Ю. Солохина, И. А. Гнеушева, Н. Е. Павловская // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2012. – Т. 35. – № 2. – С. 48-50.

98. Сравнительное исследование химического состава *Artemisia armeniaca* Lam., *Artemisia latifolia* Lideb. и *Artemisia absinthium* L. / С. Г. Ржевский, А. А. Гудкова, В. А. Агафонов, А. А. Верлина // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2019. – № 2. – С. 109-116.

99. Стальная, М. И. Биологическая активность экстрактов из растений курильского чая кустарникового / М. И. Стальная, Т. Б. Колотий // Научное обеспечение агропромышленного комплекса Юга России : сборник трудов региональной научно-практической конференции (Майкоп, 2013 г.). – Майкоп : Кучеренко В. О., 2013. – Ч. 1. – С. 226-232.

100. Стальная, М. И. Биологическое и терапевтическое действие отваров и экстрактов из растений курильского чая кустарникового / М. И. Стальная, Г. Ю. Арутюнова, И. Е. Бойко // Новые технологии. – 2014. – № 1. – С. 108-112. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 10.06.2025).

101. Сташкевич, Н. Ю. Изучение запасов курильского чая кустарникового в предгорьях Кузнецкого Алатау / Н. Ю. Сташкевич // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки : сборник статей. – Красноярск, 2010. – С. 54-56.

102. Сулейманова, Ф. Ш. к. Разработка и совершенствование методов контроля качества лекарственного растительного сырья травы золотарника канадского и определение его биологической активности : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата

фармацевтических наук / Сулейманова Фидан Ширин кызы; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2020. – 169 с.

103. Тамахина, А. Я. Розоцветные (*Rosaceae* Juss.) флоры Кабардино-Балкарии / А. Я. Тамахина // Известия Кабардино-Балкарского государственного аграрного университета им. В. М. Кокова. – 2022. – № 3 (37). – С. 7-17.

104. Тихомирова, Е. А. Фармакогностическое изучение и стандартизация сырья ириса болотного : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Тихомирова Екатерина Алексеевна; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2024. – 171 с.

105. Тринеева, О. В. Определения простых сахаров в лекарственном растительном сырье методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной) / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин // Химия растительного сырья. – 2020. – № 1. – С. 215-222. – DOI: 10.14258/jcprgm.2020015122.

106. Тринеева, О. В. Разработка теоретических подходов к определению основных групп биологически активных веществ лекарственного растительного сырья методом ТСХ / О. В. Тринеева // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10. – № 2. – С. 69-79. – DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-69-79.

107. Тринеева, О. В. Состав метаболома крапивы двудомной, произрастающей на территории Центрального Черноземья (обзор) / О. В. Тринеева, А. Н. Сливкин, Е. Ф. Сафонова // Химия растительного сырья. – 2022. – № 2. – С. 5-18. – DOI: 10.14258/jcprgm.20220210214.

108. Трошина, А. И. Общая характеристика семейства розоцветные / А. И. Трошина, Ю. Ю. Стручкова // Научный электронный архив : сайт / Российская Академия Естествознания. – URL: rae.ru (дата обращения: 21.10.2025).

109. Турецкова, В. Ф. Хроматографическое исследование сапонинов побегов курильского чая кустарникового / В. Ф. Турецкова, А. Г. Дулепов, О. В. Гузеева // Актуальные проблемы фармации : сборник статей. – Варнаул : Издательство АГМУ, 2007. – С. 95-96.
110. Файл:Map-Rosaceae.PNG // Wikimedia Commons : сайт. – URL: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Map-Rosaceae.PNG> (дата обращения: 19.06.2024).
111. Фармакогнозия: характеристика отдельных видов лекарственного растительного сырья : Практикум / Ответственный редактор О.Е. Насакин. – Чебоксары : Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, 2021. – 64 с. – ISBN 978-5-7677-3358-3.
112. Фармакопея Евразийского экономического союза : в 3 частях / Евразийская экономическая комиссия. – Т. 1 // Официальный сайт Евразийского экономического союза : сайт. – URL: <https://eaeunion.org> (дата обращения: 20.05.2024).
113. Федеральная служба государственной статистики : официальный сайт. – Москва : Росстат. – Обновляется в течение суток. – URL: <https://rosstat.gov.ru> (дата обращения: 18.03.2023).
114. Федосеева, Л. М. Изучение сапонинов в подземных органах ферулы хермонской / Л. М. Федосеева, Д. Б. Башар // Химия растительного сырья. – 2016. – № 1. – С. 181-184. — DOI: 10.14258/jcprm.201601700.
115. Физико-химические методы анализа : учебное пособие / Н. М. Дубова, Т. М. Гиндуллина, Г. Н. Сутягина, Е. И. Короткова. – Томск : Изд-во ТПУ, 1999. – 123 с.
116. Физико-химические методы изучения антиоксидантной активности растительного сырья и продуктов его переработки / С. П. Завадский, И. И. Краснюк, Ю. Я. Харитонов [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2017. – № 2. – С. 214–221.
117. Фитохимический анализ биотехнологического сырья представителей рода *Potentilla* L. / Л. И. Тихомирова, Н. Г. Базарнова, А. В. Сысоева, Л. В. Щербакова // Химия растительного сырья. – 2018. – № 1. – С. 145-154.

118. Химический состав и перспективы применения в медицинской практике побегов курильского чая (*Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz): обзор / А. В. Требухов, Л. Г. Дворникова, М. В. Горячева, Т. С. Малолеткина // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2024. – Т. 14. – № 2. – С. 159-170.
119. Хисматуллина, Д. И. Содержание флавоноидов в растительном сырье и их сохранность после термической обработки / Д. И. Хисматуллина, А. А. Нигматьянов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2017. – № 5 (67). – С. 221-223. – URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 14.12.2025).
120. Хисямова, Д. М. Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых представителей рода лапчатка (*Potentilla* L.) : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Хисямова Динара Мидхатовна ; Самарский государственный медицинский университет. – Самара, 2017. – 172 с.
121. Хобракова, В. Б. Экстракт пятилистника кустарникового – перспективный регулятор иммунологических реакций организма / В. Б. Хобракова, С. М. Николаев, П. Б. Цыдендамбаев // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2012. – Т. 114. – № 7. – С. 100-103.
122. Храмова, Е. П. Изменчивость флавоноидного состава листьев *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) разных возрастных состояний в условиях Горного Алтая / Е. П. Храмова, Е. К. Комаревцева // Растительные ресурсы. – 2008. – Т. 44. – № 3. – С. 96-102.
123. Храмова, Е. П. Особенности накопления фенольных соединений в растениях *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) в течение суток / Е. П. Храмова // Химия растительного сырья. – 2017. – № 4. – С. 97-106.
124. Храмова, Е. П. Род *Pentaphylloides* Hill (Rosaceae) Азиатской России (фенольные соединения, элементный состав в природе и культуре, хемотаксономия) : специальность 03.02.01 «Ботаника» : диссертация ... доктора

биологических наук / Храмова Елена Петровна; Центральный сибирский ботанический сад СО РАН. – Новосибирск, 2016. – 437 с.

125. Храмова, Е. П. Сравнительное исследование биологически активных веществ *Dasiphora fruticosa* и *Comarum salesovianum* из Горного Алтая / Е. П. Храмова // Химия растительного сырья. – 2020. – № 1. – С. 189-197.

126. Храмова, Е. П. Хемотаксономическое исследование сибирских видов рода *Pentaphylloides* Hill / Е. П. Храмова // Turczaninowia. – 2013. – Т. 16. – № 4. – С. 55-62. – DOI: 10.14258/turczaninowia.16.4.10.

127. Хуммедов, Г. Физико-химические методы анализа лекарственных растений / Г. Хуммедов, О. Халымова, Г. Гуджималова // Ceteris Paribus. – 2025. – № 4. – С. 30-33.

128. Цыдендамбаев, П. Б. Биологические эффекты флавоноидов / П. Б. Цыдендамбаев, Б. С. Хышиктуев, С. М. Николаев // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2006. – № 6 (52). – С. 229-233.

129. Чекина, Н. А. Фармакологическая эффективность пятилистника кустарникового в профилактике и лечении сахарного диабета / Н. А. Чекина, С. А. Чукаев, В. Б. Хобракова // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2010. – № 3 (73). – С. 379-382.

130. Шарафетдинов, Х. Х. Оценка эффективности использования в диетотерапии больных сахарным диабетом типа 2 биологически активной добавки, содержащей экстракт курильского чая / Х. Х. Шарафетдинов, В. В. Зыкина, О. А. Плотникова // Вопросы питания. – 2008. – Т. 77. – № 4. – С. 52-58.

131. Швагер, Я. Е. Изучение диагностических и анатомических признаков, а также анализ состава БАФ листьев сныти обыкновенной (*Aegoródium podagrária*) / Я. Е. Швагер // Лучшая студенческая статья 2022 : сборник статей XLIII Международного научно-исследовательского конкурса, Пенза, 10 мая 2022 года. – Пенза: Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г.Ю.), 2022. – С. 177-180.

132. Шестопалова, Н. Б. Методы анализа лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе: фармакопейные требования / Н. Б. Шестопалова // Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов (MOSM 2024) : VIII Международная научно-практическая конференция : сборник тезисов (Екатеринбург, 9–13 июня 2024 г.). – Екатеринбург : ИП Шестакова Е. В., 2024. – С. 298. – URL: urfu.ru (дата обращения: 06.01.2026).
133. Шретер, А. И. Лекарственная флора советского Дальнего Востока / А. И. Шретер ; Всесоюзный научно-исследовательский институт лекарственных растений. – Москва : Медицина, 1975. – 328 с.
134. A Contrastive Phytopharmacological Analysis of Gala and Fuji Apple / S. Ahmad, T. Mahmood, R. Kumar [et al.] // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2020. – Vol. 13. – Iss. 3. – P. 1527-1537. – URL: <https://rjptonline.org> (дата обращения: 09.12.2025). – DOI: 10.5958/0974-360X.2020.00278.4.
135. A global profiling strategy for identification of the total constituents in Chinese herbal medicine based on online comprehensive two-dimensional liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry combined with intelligentized chemical classification guidance / K. Du, T. Liu, W. Ma [et al.] // Journal of Chromatography. A. – 2023. – Vol. 1710. – Art. 464387. – DOI: 10.1016/j.chroma.2023.464387.
136. A holistic overview of different species of *Potentilla* a medicinally important plant along with their pharmaceutical significance: A review / S. Kumari, A. Seth, S. Sharma, C. Attri // Journal of Herbal Medicine. – 2021. – Vol. 29. – Art. 100460.
137. A new methylene bisflavan-3-ol from the branches and leaves of *Potentilla fruticosa* / Y. Zeng, Y. X. Sun, X. H. Meng [et al.] // Natural Product Research. – 2020. – Vol. 34. – № 9. – P. 1238-1248. – DOI: 10.1080/14786419.2018.1557169.
138. Almond (*Prunus amygdalus* Batsch.): A Latest Review on Pharmacology and Medicinal uses / D. Singh, K. J. Gohil, R. T. Rajput, V. Sharma. – DOI 10.52711/0974-360X.2022.00553 // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2022. – Vol. 15. – № 7. – P. 3301-3308. – URL: <https://rjptonline.org> (дата обращения: 09.12.2025).

139. An increase in livestock density increases forage nutritional value but decreases net primary production and annual forage nutritional yield in the alpine grassland of the Qinghai-Tibetan Plateau / X. Yao, C. Li, A. A. Ahmad [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 13. – Art. 1020033. – DOI: 10.3389/fpls.2022.1020033.
140. Analysis of GC × GC fingerprints from medicinal materials using a novel contour detection algorithm: A case of *Curcuma wenyujin* / X. Yang, Y. Sima, X. Luo [et al.] // *Journal of Pharmaceutical Analysis*. – 2024. – Vol. 14. – № 4. – Art. 100936. – DOI: 10.1016/j.jpha.2024.01.004.
141. Analysis of the Composition and Quantitative determination of Hydroxycinnamic acids in Quince fruits cultivated in the Russian Federation / N. V. Nesterova, I. S. Teplov, D. O. Bokov [et al.] // *Research Journal of Pharmacy and Technology*. – 2025. – Vol. 18 (5). – P. 2291-2296. – DOI: 10.52711/0974-360X.2025.00328.
142. Anticancer Activity of Microwave Assisted Polyphenolic Compounds Extracted from Combinations of *Curcuma longa* and *Camellia sinensis* against Lung Cancer Cell Line / R. C. Jeba, G. A. Sandhya, N. Das [et al.] // *Research Journal of Pharmacy and Technology*. – 2023. – Vol. 16 (5). – P. 2192-2196. – DOI: 10.52711/0974-360X.2023.00360.
143. Antiviral and immunostimulating effects of polyphenol complex extracted from *Potentilla fruticosa* L. / A. Evstropov, L. Burova, L. Zacharova, O. Grek // *10th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases : proceedings*. – Stockholm, 2000. – P. 223-225.
144. Assessment of anti-oxidant activity of plant extracts using microbial test systems / O. Oktyabrsky, G. Vysochina, N. Muzyka [et al.] // *Journal of Applied Microbiology*. – 2009. – Vol. 106. – № 4. – P. 1175-1183. – DOI: 10.1111/j.1365-2672.2008.04083.x.
145. Biochemical composition and function of subalpine shrubland and meadow soil microbiomes in the Qilian Mountains, Qinghai-Tibetan plateau, China / Q. Fan, Y. Yang, Y. Geng [et al.] // *PeerJ*. – 2022. – Vol. 10. – Art. e13188. – DOI: 10.7717/peerj.13188.
146. Biologically active substances in *Bidens tripartita* L. changes in quantitative and qualitative composition of during granulation process / O. V. Trifonova, O. V.

Evdokimova, N. P. Sadchikova, A. A. Matyushin // *Pharmaceutical Sciences and Research*. – 2018. – Vol. 10 (11). – P. 2872-2875.

147. Changes of soil bacterial community composition and functional groups in different altitude gradients of *Potentilla fruticosa* shrub in eastern Qinghai-Tibet Plateau / L. Xie, Y. Ma, Y. Wang [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2025. – Vol. 16. – Art. 1539945. – DOI: 10.3389/fpls.2025.1539945.

148. Chen, C. Measurement of quercetin and kaempferol contents in *Potentilla fruticosa* from different regions by HPLC method / C. Chen, X. W. Zhang, Z. M. Luo // *Chinese Journal of Analysis Laboratory*. – 2009. – Vol. 28. – № 11. – P. 54-56.

149. Classification «APG IV» // *OmniBota* : сайт. – URL: omnibota.com (дата обращения: 21.10.2025).

150. Effect of several flavonoid-containing plant preparations on activity of mitochondrial ATP-dependent potassium channel / G. D. Mironova, M. I. Shigaeva, N. V. Belosludtseva [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2008. – Vol. 146 (2). – P. 229-233. – DOI: 10.1007/s10517-008-0255-7.

151. Element composition of *Pentaphylloides fruticosa* of the Russian Far East and East Siberia / E. V. Andysheva, O. V. Chankina, E. P. Khramova [et al.] // *Physics Procedia*. – 2016. – Vol. 84. – P. 263-269. – DOI: 10.1016/j.phpro.2016.11.045.

152. Evaluation of antioxidative properties of *Geranium macrorrhizum* and *Potentilla fruticosa* extracts in Dutch style fermented sausages / G. Miliuskas, E. Mulder, J. P. H. Linssen [et al.] // *Meat Science*. – 2007. – Vol. 77 (4). – P. 703-708.

153. Hepatoprotective properties of aqueous extract from *Pentaphylloides fruticosa* during chronic toxic hepatitis / M. A. Kolpakov, O. R. Grek, Y. V. Bashkirova [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2001. – Vol. 131. – № 5. – P. 470-472. – DOI: 10.1023/A:1017932216933.

154. High-Pressure Extraction of Antioxidant-Rich Fractions from Shrubby Cinquefoil (*Dasiphora fruticosa* L. Rydb.) Leaves: Process Optimization and Extract Characterization / M. Syrpas, K. Subbarayadu, V. Kitryté, P. R. Venskutonis // *Antioxidants*. – 2020. – Vol. 9 (6). – Art. 457.

155. Influence of Conservation Methods on the sour cherry (*Cerasus vulgaris* Mill.) fruits quality / T. Yu. Kovaleva, D. O. Bokov, E. V. Sergunova [et al.] // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2024. – Vol. 17. – № 6. – P. 2443-2448. – URL: rjptonline.org (дата обращения: 09.12.2025). – DOI: 10.52711/0974-360X.2024.00382.
156. Kagan, I. A. Thin-layer chromatographic (TLC) separations and bioassays of plant extracts to identify antimicrobial compounds / I. A. Kagan, M. D. Flythe // Journal of Visualized Experiments. – 2014. – № 85. – Art. 51411. – DOI: 10.3791/51411.
157. Kale, A. A. Kinetic and Thermodynamic Study of Adsorption Methylene Blue by Nitrated Biomass of *Prunus cerasus* / A. A. Kale // Asian Journal of Research in Chemistry. – 2021. – Vol. 14. – № 4. – P. 242-246. – URL: <https://ajrconline.org> (дата обращения: 09.12.2025). – DOI: 10.52711/0974-4150.2021.00041.
158. Leaf Stoichiometry of *Potentilla fruticosa* Across Elevations in China's Qilian Mountains / Y. Qin, W. Liu, X. Zhang [et al.] // Frontiers in Plant Science. – 2022. – Vol. 13. – Art. 814059. – DOI: 10.3389/fpls.2022.814059.
159. Lenchyk, L. V. Investigation of Phenolic Compounds in Cherry Leaves Extract / L. V. Lenchyk, N. B. Saidov // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2017. – Vol. 10 (12). – P. 4402-4406. – DOI: 10.5958/0974-360X.2017.00811.3.
160. Luo, Z. Phenolic profiles and antioxidant capacities of crude extracts and subsequent fractions from *Potentilla fruticosa* L. leaves / Z. Luo, S. Wang, D. Wang // Natural Product Research. – 2016. – Vol. 30. – № 16. – P. 1890-1895.
161. Marston, A. Thin-layer chromatography with biological detection in phytochemistry / A. Marston // Journal of Chromatography A. – 2011. – Vol. 1218 (19). – P. 2676-2683. – DOI: 10.1016/j.chroma.2010.12.068.
162. Phenolic compounds and antioxidant activity of different organs of *Potentilla fruticosa* L. from two main production areas of China / D. Yu, W. Pu, D. Li [et al.] // Chemistry & Biodiversity. – 2016. – Vol. 13 (9). – P. 1140-1148. – DOI: 10.1002/cbdv.201500512.
163. Phytochemical profiles, antioxidant and antimicrobial activities of three *Potentilla* species / S. S. Wang, D. M. Wang, W. J. Pu [et al.] // BMC Complementary and Alternative Medicine. – 2013. – Vol. 13. – Art. 321.

164. Phytochemical Profiling of Extracts from Rare *Potentilla* Species and Evaluation of Their Anticancer Potential / D. Augustynowicz, M. K. Lemieszek, J. W. Strawa [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24. – № 5. – Art. 4836. – DOI: 10.3390/ijms24054836.
165. Plants of the World Online (POWO) / Royal Botanic Gardens, Kew // POWO : сайт. – URL: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30000237-2> (дата обращения: 18.10.2025).
166. *Potentilla fruticosa* L. // Schede di botanica : информационный портал. – URL: <https://altervista.org> (дата обращения: 21.10.2025).
167. Quantification of rat brain amino acids: analysis of the data consistency / L. Trofimova, A. Ksenofontov, G. Mkrtychyan [et al.] // Current Analytical Chemistry. – 2016. – Vol. 11. – № 1. – P. 1-8. – DOI: 10.2174/1573411011666150219202525.
168. Ramu, B. High performance thin layer chromatography and its role pharmaceutical industry: Review / B. Ramu, K. B. Chittela // Open Science Journal of Bioscience and Bioengineering. – 2018. – Vol. 5 (3). – P. 29-34. – URL: openscienceonline.com (дата обращения: 18.05.2026).
169. Recent Phytochemical and Pharmacological Advances in the Genus *Potentilla* L. sensu lato – An Update Covering the Period from 2009 to 2020 / Y.Zeng, X. Peng, S. J. He [et al.]. – Текст : electronic // Journal of Ethnopharmacology. – 2021. – Vol. 266. – Art. 113412. – DOI: 10.1016/j.jep.2020.113412.
170. *Rosaceae* Juss // World Flora Online Plant List : сайт. – URL: <https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-7000000532-2024-06?page=1> (дата обращения: 02.07.2024).
171. Study of Chemical Composition and Diuretic Activity of Cherry Fruit Extract / L. V. Lenchyk, D. Ovezgeldiyev, O. V. Shapoval [et al.] // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2018. – Vol. 11 (7). – P. 3036-3042. – DOI: 10.5958/0974-360X.2018.00559.0.
172. Synergistic Effects of *Potentilla fruticosa* L. Leaves Combined with Green Tea Polyphenols in a Variety of Oxidation Systems / Z. Liu, Z. Luo, C. Jia [et al.] // Journal

of Food Science. – 2016. – Vol. 81. – № 5. – P. C1091-C1101. – DOI: 10.1111/1750-3841.13292

173. The competitive relationship of scrub plants for water use in the subalpine zone of the Qilian Mountains in China / H. Luo, W. Jia, F. Zhang [et al.] // Environmental Science and Pollution Research. – 2024. – Vol. 31. – № 14. – P. 21326-21340. – DOI: 10.1007/s11356-024-32519-3.

174. Tikhomirova, L. I. Development of biotechnology for cultivating *Potentilla* L. plant material with antiviral and antibacterial activity / L. I. Tikhomirova, A. A. Zaripova // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – 2020. – Vol. 941. – № 1. – Art. 012030. – DOI: 10.1088/1757-899X/941/1/012030.

175. Tomczyk, M. *Potentilla* – a review of its phytochemical and pharmacological profile / M. Tomczyk, K. P. Latté // Journal of Ethnopharmacology. – 2009. – Vol. 122. – № 2. – P. 184-204.

176. Tomczyk, M. Variation in total polyphenolics contents of aerial parts of *Potentilla* species and their anticarcinogenic activity / M. Tomczyk, M. Pleszczyńska, A. Wiater // Molecules. – 2010. – Vol. 15. – № 7. – P. 4639-4651.

177. Torii, Y. Antioxidant activities of Mongolian medical plants: *Pentaphylloides fruticosa* as a traditional source of natural antioxidants / Y. Torii, K. Shimizu, F. Takenaga // Food Preservation Science. – 2012. – Vol. 38 (1). – P. 25-30.

178. Tsugita, A. A rapid method for acid hydrolysis of protein with a mixture of trifluoroacetic acid and hydrochloric acid / A. Tsugita, J. J. Scheffler // European Journal of Biochemistry. – 1982. – Vol. 124. – № 3. – P. 585-588. – DOI: 10.1111/j.1432-1033.1982.tb06634.x.

179. Ultrasound-Assisted Extraction of Flavonoids from *Potentilla fruticosa* L. Using Natural Deep Eutectic Solvents / H. Xue, J. Li, G. Wang [et al.] // Molecules. – 2022. – Vol. 27 (18). – Art. 5794.

ПРИЛОЖЕНИЕ А. Акт о внедрении результатов диссертации в учебный процесс кафедры химии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
имени И.М. Сеченова
Минздрава России
(Сеченовский Университет)
Литвинова Т.М.
2025 г.



08 ДЕК 2025

АКТ
812

о внедрении результатов диссертации Соколовой Альбины Наильевны в учебный процесс кафедры химии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)


Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Соколовой Альбины Наильевны на тему «Изучение состава и разработка методов стандартизации побегов и листьев *Potentilla fruticosa* (L.)» внедрены в учебный процесс кафедры химии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплин по выбору «Химия биополимеров» и «Определение веществ маркеров при исследовании комплексных препаратов из лекарственного растительного сырья», читаемых студентам обучающимся по направлению 33.05.01 Фармация

Директор Института Фармации имени А.П. Нелюбина	 (подпись)	Раменская Г.В.
Заведующий кафедрой Химии	 (подпись)	Нестерова О.В.
Начальник Учебного управления	 (подпись)	Юдина Л.Ю.

Рисунок А.1 – Акт о внедрении результатов диссертации в учебный процесс кафедры химии Института фармации имени А.П. Нелюбина

ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Акт о внедрении результатов диссертации в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
имени И.М. Сеченова
Минздрава России
(Сеченовский Университет)
Литвинова Т.М.
« 08 Октября » 2025 г.


АКТ
811

08 Октября 2025

о внедрении результатов диссертации Соколовой Альбины Наильевны в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Соколовой Альбины Наильевны на тему «Изучение состава и разработка методов стандартизации побегов и листьев *Potentilla fruticosa* (L.)» внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

при изучении дисциплины «Фармакогнозия», «Ботаника», читаемых студентам по направлению 33.05.01 Фармация

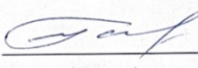



Директор Института Фармации имени А.П. Нелюбина	 (подпись)	Раменская Г.В.
Заведующий кафедрой Фармацевтического естествознания	 (подпись)	Луферов А.Н.
Начальник Учебного управления	 (подпись)	Юдина Л.Ю.

Рисунок Б.1 – Акт о внедрении результатов диссертации в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

ПРИЛОЖЕНИЕ В. Акт о внедрении результатов в производственную практику

Федеральное медико-биологическое агентство


 Федеральное государственное унитарное предприятие
 Научно-производственный центр «Фармзащита»
 (ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России)

Вашутинское шоссе, д. 11, г. Химки, Московская область, 141402
 Тел./факс (495) 789-65-55 e-mail: info@atompharm.ru
 www.atompharm.ru
 ОКПО 18152288; ОГРН 1035009556856;
 ИНН/КПП 5047009329/504701001

05.03.2026 № Б/к

На № _____ от _____

АКТ о внедрении

1. Наименование предложения для внедрения: предложенная автором методика идентификации и количественного определения веществ флавоноидной природы в побегах и листьях курильского чая внедрена для оценки качества фитопрепаратов.
2. Кем разработано: аспирантом кафедры химии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), А.Н. Соколовой.
3. Где и когда внедрено: ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России.
4. Результаты внедрения: положительные.
5. Эффективность внедрения: разработанные автором методики идентификации и количественного определения веществ флавоноидной природы в побегах и листьях курильского чая, внедренные для оценки качества фитопрепаратов, позволили интенсифицировать процесс оценки качества лекарственных средств.

Первый заместитель директора
 ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России


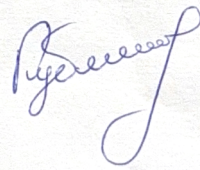


 О.В. Кубата

Рисунок В.1 – Акт о внедрении основных результатов в рабочий процесс ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России

ПРИЛОЖЕНИЕ Г. Проект фармакопейной статьи «Лапчатки
кустарниковой побеги - *Potentilla fruticosa cormi*»

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Лапчатки кустарниковой побеги ФС – Вводится впервые

Potentilla fruticosa cormi

Высушенные молодые вегетативные побеги культивируемого листопадного кустарника, заготовленные в период бутонизации - *Potentilla fruticosa* (L.), сем. розоцветных - *Rosaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Цельные и частично измельченные стебли длиной от 5 до 30 см, ветвящиеся, округлые и слегка ребристые. Ветви длинные, хорошо разветвленные. Побеги густооблиственные. Листья сложные, непарноперистые, черешковые, длиной до 30 мм, шириной до 10 мм. Состоят из 5 листочков (три верхних сидячих и два нижних отдельных). Листовые пластинки ланцетоовальные, цельнокрайные, заостренные к верхушке, наиболее широкие в средней или базальной части. Прилистники пленчатые, сросшиеся с черешком. Цветки одиночные или собранные в малоцветковые верхушечные зонтиковидные или щитковидные соцветия. Цветоложе слегка вдавленное (иногда вогнутое, чашевидное). Чашечка двойная, состоит из 5 ланцетных чашелистиков и 5 чередующихся с ними более мелких листочков подчашья. Венчик раздельнолепестный, состоит из 5 свободных округлых лепестков, налегающих друг на друга. Диаметр венчика составляет 4–8 мм. Тычинки и пестики многочисленные. Рыльца пестиков лопастные. Стебли — зеленовато-бурые или коричневые; листья — зеленые или серовато-зеленые; чашечка и подчашье —

зеленые; лепестки — ярко-желтые. Запах — слабый, характерный. Вкус водного извлечения вяжущий, горьковатый.

Измельченное сырье.

Измельченное сырье представляло собой фрагменты листочков, черешков, стеблей и элементов цветка (чашелистиков и лепестков), проходящие через сито с диаметром отверстий 5 мм. Цвет от светло-зеленого до серовато-зеленого. Запах ароматный. Вкус водного извлечения освежающий, с легкой горчинкой и сладостью.

Порошок.

Смесь мелких бесформенных кусочков пластинок листьев, черешков, стеблей, лепестков и чашелистиков, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,2 мм. Светло-зеленый или желтовато-зеленый. Запах ароматный. Вкус Освежающий, с легкой горчинкой и сладковатым послевкусием.

Микроскопические признаки.

Цельное сырье.

На поперечном срезе стебель имеет округлую форму. Непучковое строение, на срезе отчетливо дифференцируются коровая часть, зона древесины и сердцевина.

Покровная ткань.

Покровная ткань представлена перидермой (пробкой), состоящей из нескольких слоев уплощенных клеток.

Коровая паренхима и камбиальная зона. Кора отграничена от древесины непрерывным кольцом камбия.

Древесина. Занимает значительную часть среза, склерифицирована. Проводящие элементы представлены крупными округлыми сосудами (трахеями), расположенными одиночно или небольшими радиальными группами. Древесная паренхима пронизана узкими, радиально расположенными однорядными сердцевинными лучами.

Сердцевина. Центральная часть стебля занята широкой зоной рыхлой паренхимы. Клетки сердцевины округло-многоугольные, тонкостенные. В

паренхиме сердцевины содержатся кристаллические включения — крупные, четко очерченные друзы оксалата кальция.

При рассмотрении листа с поверхности видны клетки верхнего эпидермиса полигональной формы с прямыми стенками. Клетки нижнего эпидермиса имеют слабоизвилистые контуры. Устьичный аппарат расположен преимущественно на нижней стороне листовой пластинки. Замыкающие клетки устьиц окружены неопределенным числом основных эпидермальных клеток (устьичный аппарат аномоцитного типа), листовая пластинка с верхней и нижней стороны густо опушена волосками двух типов: простые и головчатые (железистые) волоски.

При рассмотрении микропрепарата чашелистика с поверхности видны прямостенные клетки эпидермиса, устьичный аппарат имеет аномоцитное строение и локализован главным образом на нижней стороне. Чашелистики густо опушены с обеих сторон простыми одноклеточными толстостенными волосками, которые характеризуются слабоизвилистым (волнистым) стержнем, заостренной верхушкой и расширенным основанием. Кроме того, на нижней стороне обнаруживаются головчатые волоски, состоящие из короткой одноклеточной ножки и округлой многоклеточной головки. Обнаружены кубические друзы оксалата кальция.

Клетки эпидермиса лепестка мелкие, полигональной формы. Клетки верхней (внутренней) стороны характеризуются наличием отчетливых сосочковидных выростов. Опушение редкое, представлено единичными, простыми, тонкими, гигантскими, часто перекрученными волосками. В мезофилле лепестка содержатся многочисленные хромопласты, заполненные пигментами каротиноидного комплекса в виде капель и глыбок оранжевого цвета. На поверхности лепестков выявляются свободные, гладкие и округлые пыльцевые зерна.

Измельченное сырье и порошок. При рассмотрении «давленных» препаратов и порошка должны быть видны: отдельные клетки паренхимы, устьица, трихомы и иногда сферокристаллами и трихомы.

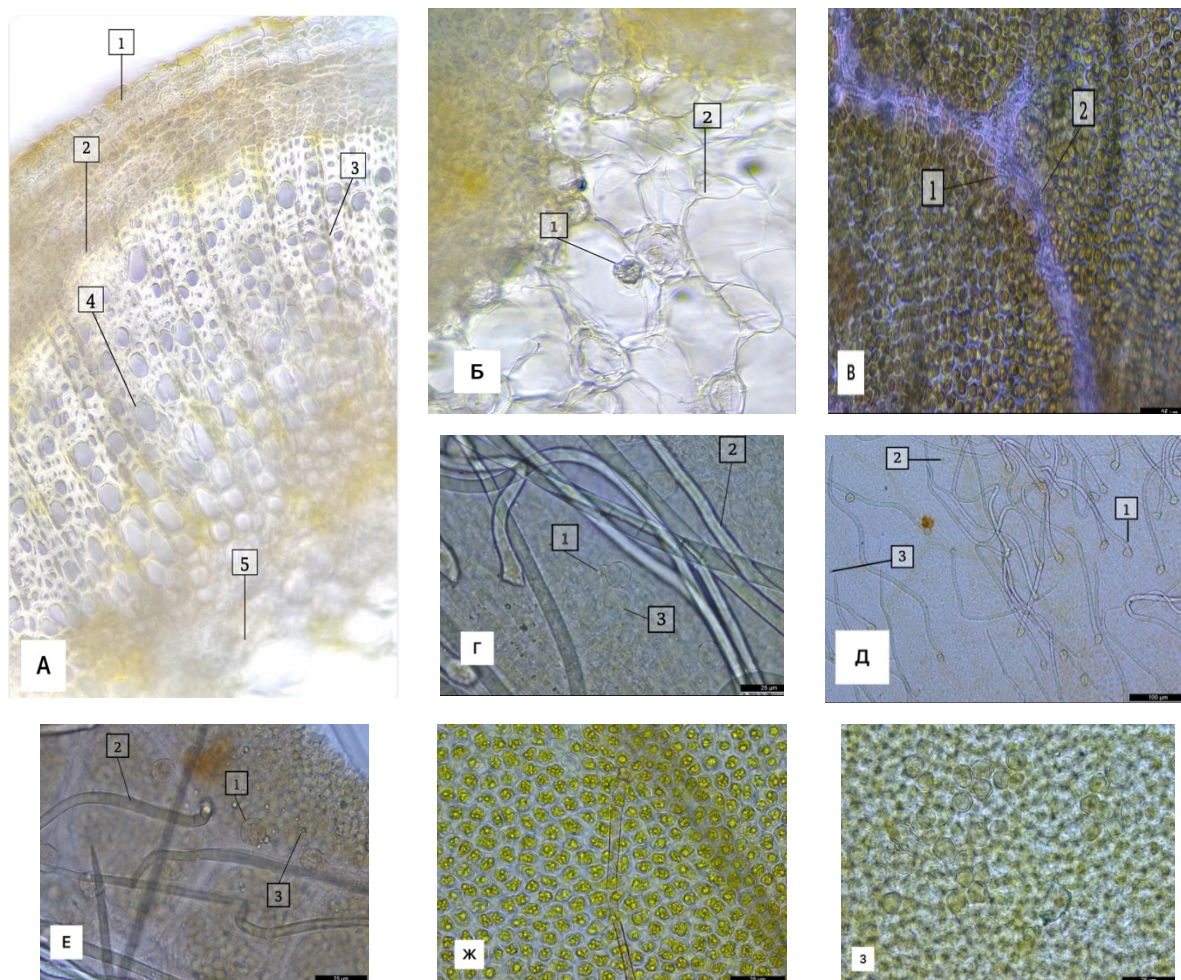


Рисунок Г.1 – Поперечный срез одревесневшего стебля. Общий вид (объектив 10х) 1 - пробка, 2 – камбий, 3 – лучи, 4 – сосуды, 5 сердцевина (А); Фрагмент сердцевины (объектив 10х) 1 – друзы оксалата кальция, 2 – сердцевина (Б); Фрагмент листа (объектив 10х) 1 – кристаллы оксалата кальция, 2 - друзы оксалата кальция (В); Строение чашелистика (объектив 10х) 1- головчатый волосок, 2- простой волосок, 3 – устьице (Г); Фрагмент листа (объектив 4х) 1 - простой волосок с округлым основанием, 2 – головчатый волосок, 3 – кристаллы оксалата кальция (Д); Фрагмент листа (объектив 10х) 1 - головчатый волосок на ножке, 2 - простой волосок с округлым основанием, 3 - кристаллы оксалата кальция (Е); Строение лепестка (объектив 10х) (Ж); Пыльцевые зерна (объектив 10х) (З)

Определение основных групп биологически активных веществ

1. Тонкослойная хроматография

Раствор стандартного образца (СО) танина. 0,05 г (точная навеска) СО танина переводят в раствор путем смешивания с 10 мл 70 % этанола до полной гомогенизации. Готовый препарат годен к применению в течение 30 дней.

Хранение необходимо осуществлять в прохладном, защищенном от попадания света месте.

Раствор стандартного образца (СО) галловой кислоты. Около 0,05 г (точная навеска) СО галловой кислоты растворяют в 10 мл 70% этилового спирта до полной гомогенизации. Период стабильности полученного состава составляет не более 30 суток при условии его содержания в прохладном, защищенном от попадания света месте.

Аналитическую навеску сырья массой около 1,0 г, предварительно измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм, помещают в колбу вместимостью 100 мл. К навеске приливают 10 мл 70 % спирта этилового и подвергают экстракции на кипящей водяной бане с применением обратного холодильника в течение 60 минут. Полученное извлечение охлаждают до комнатной температуры и пропускают через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля (10 × 15 см) микрошприцем наносят 10 мкл испытуемый раствор, а также параллельно по 5 мкл растворов стандартных образцов (СО) танина и галловой кислоты. После подсушивания проб на воздухе пластинку помещают в хроматографическую камеру, предварительно выдержанную в течение 1 часа для насыщения системой растворителей н-бутанол : уксусная кислота : вода (10:3:7). После завершения восходящего хроматографирования пластинку извлекают и высушивают в вытяжном шкафу до полного удаления паров растворителей. Детекцию зон адсорбции проводят путем опрыскивания пластинки раствором железоаммонийных квасцов в спирте.

На полученной хроматограмме стандартного образца (СО) галловой кислоты должна быть видна четкая зона адсорбции, окрашенная в черно-синий цвет. Для СО танина характерно наличие аналогичного по цвету пятна, расположенного ниже уровня зоны галловой кислоты. На хроматограмме анализируемого (испытуемого) раствора должны идентифицироваться две зоны черно-синего цвета,

соответствующие по положению и окраске пятнам на хроматограммах стандартных образцов (подтверждение наличия дубильных веществ).

2. Качественная реакция

Около 1,0 г измельченного сырья (проходящего сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм) помещают в колбу, прибавляют 10 мл воды очищенной и подвергают экстракции при кипячении в течение 5 мин. Полученное извлечение охлаждают до комнатной температуры и фильтруют через бумажный фильтр. К 2 мл фильтрата добавляют 2 капли 1% раствора железа(III) аммония сульфата; должно наблюдаться появление черно-синего окрашивания, подтверждающего наличие дубильных веществ.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное и измельченное сырье – не более 13 %.*

Зола общая. *Цельное и измельченное сырье – не более 4 %.*

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное и измельченное сырье – не более 1 %.*

Измельченность сырья. *Измельченное сырье:* Частиц, не прошедших сквозь сито с размером отверстий 5 мм – не более 5 %. Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,2 мм – не более 1 %.

Посторонние примеси

Другие части растения (стебли не олиственные). *Цельное и измельченное сырье – не более 8%.*

Органическая примесь. *Цельное и измельченное сырье – не более 1 %.*

Минеральная примесь. *Цельное и измельченное сырье – не более 0,5 %.*

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

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

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

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

Количественное определение. *Цельное сырье, измельченное сырье:* экстрактивных веществ, извлекаемых водой - не менее 15 %; экстрактивных веществ, извлекаемых 70 % спиртом этиловым - не менее 19 %; полисахаридов не менее - 4%; дубильных веществ в пересчете на танин - не менее 6 %.

Экстрактивные вещества. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1, экстрагент – спирт этиловый 70%; вода; навеска 1,0 г).

Определение дубильных веществ проводят в соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1).

Сумма фенольных соединений в пересчете на танин

Приготовление реактива Фолина-Чокальтеу. В круглодонную колбу вместимостью 100–250 мл вносят 70 мл очищенной воды, добавляют 10,0 г натрия вольфрамата, 2,5 г фосфорномолибденовой кислоты и 5 мл 85 % кислоты фосфорной. Полученную смесь подвергают кипячению с использованием обратного холодильника в течение 2 ч. После завершения процесса раствор охлаждают до комнатной температуры, количественно переносят в мерную емкость, доводят объем водой до 100 мл и тщательно перемешивают. Готовый раствор подлежит хранению в плотно закупоренных склянках из темного стекла.

Приготовление раствора натрия карбоната 20 %. Навеску безводного карбоната натрия массой 20 г переносят в мерную емкость, растворяют в воде и доводят итоговый объем раствора до метки 100 мл.

Приготовление стандартного раствора танина.

Около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца танина помещают в мерную колбу объемом 100 мл, прибавляют 50 мл воды очищенной и перемешивают до полного растворения вещества.

Приготовление калибровочных растворов. Серию стандартных образцов готовили путем переноса 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 и 0,5 мл рабочего раствора Б в мерные колбы вместимостью 10 мл. К пробам добавляют воду (2 мл), реактив Фолина-Чокальтеу (0,25 мл) и 20 % раствор натрия карбоната (1,25 мл) и доводят до метки водой и оставляют в защищенном от света месте в течение 40 минут. После измеряли оптическую плотность при $\lambda = 750$ нм. Контрольным раствором служит смесь всех компонентов без внесения стандартного образца танина.

На основании полученных результатов строят калибровочный график, где по оси абсцисс - концентрация раствора танина, по оси ординат – оптическая плотность.

Для проведения анализа точную навеску 1 г предварительно измельченного и просеянного сырья курильского внесли в колбу и добавили 50 мл 70 % раствор ацетона (ацетон ТУ 6-09-3513-82 и вода очищенная в соотношении 7: 3). Процесс извлечения осуществляли в центрифуге в течение одного часа. Полученный экстракт пропускали через бумажный фильтр в мерную колбу на 50 мл, доводя содержимое до метки тем же экстрагентом (раствор А).

Аликвоту раствора А объемом 0,3 мл помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, последовательно приливают 2 мл очищенной воды, 0,25 мл реактива Фолина–Чокальтеу и 1,25 мл 20 % раствора натрия карбоната. Содержимое колбы доводят водой до метки и тщательно перемешивают. Полученную смесь выдерживают в течение 40 минут в месте, защищенном от попадания света.

Оптическую плотность полученных растворов измеряют в кварцевых кюветах с толщиной слоя 1 см при длине волны 750 нм относительно раствора сравнения. В качестве контрольного опыта использовали смесь всех реактивов, в которой исследуемый раствор был заменен соответствующим количеством

растворителя. Серию стандартных образцов готовили путем переноса 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 и 0,5 мл рабочего раствора Б в мерные колбы вместимостью 10 мл. К пробам добавляли воду (2 мл), реактив Фолина-Чокальтеу (0,25 мл) и 20 % раствор натрия карбоната (1,25 мл) и доводили до метки водой и оставляли в защищенном от света месте в течение 40 минут.

Количественное определение суммы полифенолов в исследуемом сырье проводили в пересчете танина и абсолютно сухой массы сырья:

$$X = \frac{c \cdot F}{a} \cdot \frac{100}{100 - b} \cdot 100$$

c – содержание полифенольных веществ в исследуемом растворе, найденное по градуировочному графику, мкг/мл;

a – навеска сырья, г;

F – фактор разведения;

b – потеря в массе при высушивании, %.

Определение полисахаридов

Аналитическую навеску измельченного сырья массой 10 г (точная навеска) помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 500 мл, прибавляют 200 мл воды очищенной и подвергают экстракции при кипячении с обратным холодильником в течение 30 мин. Процесс извлечения проводят трехкратно (первые две порции по 200 мл, третья — 100 мл). Полученные водные извлечения объединяют, центрифугируют и очищают от взвешенных частиц путем фильтрования через многослойный марлевый фильтр, после чего переносят в мерную колбу на 500 мл и доводят объем раствора водой до метки (раствор А).

В центрифужную пробирку помещают 25 мл раствора А, добавляют 75 мл 95% этилового спирта и перемешивают при умеренном нагреве на водяной бане. Спустя 60 минут пробу центрифугируют в течение получаса при скорости 5000 об/мин. Жидкую фазу отделяют путем вакуумной фильтрации (остаточное давление 13–16 кПа) с использованием стеклянного фильтра ПОР16. Полученный осадок количественно собирают на беззольном бумажном фильтре и последовательно очищают: сначала 15 мл раствора 95 % спирта в воде (в

соотношении 3:1), затем 10 мл ацетона и 10 мл этилацетата. Фильтр с осадком подвергают воздушной сушке, после чего выдерживают в термостате при 100–105 °С до постоянной массы.

Расчет содержания полисахаридов в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) производят по формуле:

$$x = \frac{(m_2 - m_1) * 500 * 100 * 100}{m * 25 * (100 - W)}$$

m_1 - исходная масса фильтра, г;

m_2 - суммарная масса фильтра и сухого остатка, г;

m - масса сырья, взятого для анализа, 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».