

*На правах рукописи*



**Чевидает Владимир Викторович**

**Совершенствование подходов к стандартизации грудного сбора №2**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Научный руководитель:**

кандидат фармацевтических наук, доцент

**Боков Дмитрий Олегович**

**Официальные оппоненты:**

**Ханина Миниса Абдуллаевна** – доктор фармацевтических наук, профессор, государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет», кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии, заведующий кафедрой

**Гудкова Алевтина Алексеевна** – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии, доцент кафедры

**Ведущая организация:**

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

Защита диссертации состоится «18» ноября 2026 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Zubovskiy b-p., d. 37/1 и на сайте организации: [www.sechenov.ru](http://www.sechenov.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета ДСУ 208.002.02

доктор фармацевтических наук, профессор

**Дёмина Наталья Борисовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Болезни органов дыхания существенно выделяются своим числом в общей совокупности случаев заболеваний. К ним относятся пневмония, респираторные инфекции нижних дыхательных путей, хронические болезни нижних дыхательных путей, острые респираторные инфекции верхних дыхательных путей. Неблагоприятное влияние антропогенных факторов (промышленные выбросы газов), бытовые аллергены, растительная пыльца, респираторные вирусные инфекции вносят существенный вклад в формирование и развитие патологии респираторных заболеваний. По данным сборника «Здравоохранение в России 2023» Федеральной службы государственной статистики доля респираторных заболеваний в структуре общей заболеваемости в 2022 году возросла с 26,8 % до 27,1% по сравнению с 2021 годом. В Российской Федерации заболевания верхних и нижних дыхательных путей составляют треть всех амбулаторных обращений к врачам общей практики. В 2020 году произошло распространение коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 в масштабах пандемии. Помимо высокопатогенных для человека SARS-CoV и MERS-CoV, вызывающих инфекцию в нижних дыхательных путях, существуют коронавирусы, являющиеся причиной заболевания верхних дыхательных путей: HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 и HKU1, что актуализирует проблему поиска и подбора лекарственных препаратов этиологической или симптоматической направленности в терапии респираторных заболеваний.

Ассортимент лекарственных средств (ЛС) на российском фармацевтическом рынке представлен препаратами синтетического и природного происхождения. Спрос на препараты растительного происхождения в профилактических и терапевтических целях можно объяснить относительной безопасностью, узким спектром противопоказаний и богатым опытом применения в ретроспективе. Доля лекарственных растительных препаратов (ЛРП) и лекарственных средств растительного происхождения (ЛСРП) от общего числа зарегистрированных лекарственных средств составляет примерно 25%. Среди них наиболее распространены комбинированные препараты (8,54%), которые выпускаются в твёрдых (таблетки, капсулы), жидких (настойки, экстракты, растворы) формах и в виде многокомпонентных ЛРП (сборы). Одним из зарегистрированных многокомпонентных ЛРП, используемым в составе комплексной терапии респираторных заболеваний в качестве отхаркивающего средства растительного происхождения, является грудной сбор №2 (ГС №2), (Фитопектол №2, *Pectorales species* №2).

ГС №2 реализуется в формах выпуска сбор-порошок в фильтр-пакетах и сбор

измельчённый в пачках картонных. Лекарственное растительное сырьё (ЛРС) в ГС №2 является фармакопейным и представлено мать-и-мачехи обыкновенной листьями (*folia Tussilaginis farfarae*) – 40%, подорожника большого листьями (*folia Plantaginis majoris*) – 30%, солодки корнями (*radices Glycyrrhizae glabrae*) – 30%. Однако на сам ГС №2 до настоящего времени отсутствует действующая фармакопейная статья (ФС), которая учитывала бы в полной мере современные требования к ЛС. Конечной лекарственной формой ГС №2, изготавливающейся в рецептурно-производственном отделе аптек и самостоятельно пациентами, является водное извлечение – настой сбора. Композиция сбора и лекарственная форма подобраны таким образом, чтобы основные группы БАС гидрофильной природы, содержащиеся в компонентах сбора, переходили в настой и оказывали выраженное комплексное фармакологическое действие. Такой подход обуславливает преимущество сборов перед однокомпонентными ЛРП.

В течение многих лет и по настоящее время ГС №2 активно реализуется в аптечных учреждениях и используется в врачебной практике. Однако вопросам стандартизации сбора уделено недостаточно внимания. Не приведена стандартизация сбора по основным БАС и группам БАС – полисахаридам (ПСХ), глицирризиновой кислоте (ГК). Стандартизация ПСХ компонентов сбора проводится с использованием устаревших методик, либо не проводится вообще.

Таким образом, перспективными является изучение компонентного состава БАС ГС №2 с дальнейшей разработкой новых подходов к стандартизации ГС №2 с использованием современных методов анализа и оценка перехода БАС в настой сбора, как лекарственной формы.

### **Степень разработанности темы исследования**

В настоящее время отсутствует действующая ФС на ГС №2. Существуют фармакопейные статьи на компоненты сбора, включённые в Государственную Фармакопею Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ XIV). Метод гравиметрии для определения содержания полисахаридов, приведённый в ФС «Подорожника большого листа» ГФ РФ XIV изд. имеет недостатки в виде длительности анализа и низкой чувствительности. Поэтому возникает необходимость совершенствования методов количественной оценки углеводов. В научной литературе не представлены исследования, касающиеся изучения химического состава, разработки показателей подлинности и доброкачественности ГС №2, а также оценки перехода БАС в настой.

### **Цель и задачи исследования**

Целью настоящей работы является совершенствование подходов к идентификации и определению содержания основных и маркерных биологически активных соединений ГС №2 для

разработки характеристик подлинности и доброкачественности.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Провести информационно-аналитический обзор доступной научной литературы с акцентированием внимания на химический состав, контроль качества сбора, его компонентов и водных извлечений на их основе, существующих подходов к стандартизации в отечественной и зарубежной нормативной документации, анализе номенклатуры ЛРП и ЛСРП на основе компонентов сбора;

2. Изучить внешние и анатомо-диагностические признаки ГС №2, выпускаемого в пачках и фильтр-пакетах, и компонентов сбора;

3. Провести фитохимический анализ ГС №2, выпускаемого в пачках и фильтр-пакетах, компонентов сбора и извлечений на их основе, включая качественную и количественную оценку групп БАС (полисахариды, сапонины, флавоноиды, дубильные вещества, аминокислоты, летучие органические соединения, элементный состав) с использованием фармакопейных и нефармакопейных инструментальных физико-химических методов анализа;

4. Разработать и валидировать методики количественного определения полисахаридов и глицирризиновой кислоты в ГС №2;

5. Обосновать изменение некоторых показателей качества ГС №2 (влажность, зола общая, зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, измельчённость, органическая и минеральная примеси, экстрактивные вещества, извлекаемые водой, сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу на абсолютно сухом сырье, содержание глицирризиновой кислоты), определить их нормы и разработать проекты фармакопейных статей на ГС №2 измельчённый и ГС №2 сбор-порошок согласно актуальным требованиям к разработке нормативной документации.

6. Оценить антиоксидантную активность настоев ГС №2.

### **Научная новизна**

Научная новизна заключается в получении научно обоснованных экспериментальных данных для совершенствования подходов к стандартизации ГС №2. Методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) дана качественная оценка соединений ГС №2 и входящих в него компонентов. Методом гравиметрии установлено содержание полисахаридов в ГС №2, его компонентах и водных извлечениях на их основе. Применением метода спектрофотометрии определено содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в ГС №2, его компонентах и водных извлечениях на их основе. Титриметрическим методом установлено содержание дубильных веществ в ГС №2, его компонентах и водных извлечениях на их основе. В работе применялись современные инструментальные физико-химические методы (УЭЖХ-УФ-МС/МС,

ГХ-МС, ГХ-ПИД, ИСП-МС) для идентификации и оценки содержания флавоноидов, сапонинов и гидроксикоричных кислот, летучих соединений, жирных кислот, аминокислот, элементного состава. Разработаны и валидированы методики количественного определения восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырье и глицирризиновой кислоты в абсолютно сухом сырье в ГС №2 методом спектрофотометрии. Установлена антиоксидантная активность настоев ГС №2.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость работы заключается в расширении сведений о морфологических, анатомо-диагностических признаках, химическом составе БАС, маркерных соединений ГС №2, переходе БАС ГС №2 в настой, антиоксидантной активности настоев сбора измельчённого и сбора-порошка. Научно обоснованы характеристики подлинности и показатели качества ГС№2 сбора измельчённого и сбора-порошка.

На основе разработанных показателей качества и методик количественного определения восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырье и глицирризиновой кислоты в абсолютно сухом сырье подготовлены проекты фармакопейный статей на ГС №2 измельчённый и ГС №2 сбор-порошок.

### **Методология и методы исследования**

Методология фармакогностического исследования представлена последовательным рядом блоков информационно-аналитического, морфолого-анатомического, фитохимического, стандартизационного характера. Ключевыми методами исследования, применяющимися в настоящей работе, являются микроскопический, спектральный (спектрофотометрия в УФ- и видимой областях, ИСП-МС), хроматографический (ТСХ, ВЭЖХ с диодноматричным спектрофотометрическим детектором и флуориметрическим детектором, УЭЖХ-УФ-МС/МС, ГХ-МС, ГХ-ПИД), гравиметрический, титриметрический.

Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с требованиями ГФ XV изд. с использованием ПО «Microsoft Office Excel 2019».

### **Личный вклад автора**

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, постановке целей и задач, выборе объекта исследования, проведении информационно-аналитического и экспериментальных исследований, обобщении и статистической обработке полученных результатов, разработке проекта ФС на ГС №2, подготовке публикаций и участии с докладами на научно-практических конференциях по теме диссертационного исследования.

Экспериментальная часть работы, включая определение внешних и микроскопических признаков ГС №2 и его компонентов, физико-химические исследования состава БАС, минеральных веществ ГС №2, его компонентов и настоев на их основе, определение антиоксидантной активности настоев ГС №2, выполнена лично автором.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Результаты определения внешних и анатомо-диагностических признаков ГС №2, выпускаемого в пачках и фильтр-пакетах, и компонентов сбора.
2. Результаты изучения состава и содержания основных групп БАС ГС №2, выпускаемого в пачках и фильтр-пакетах, его компонентах и настоях.
3. Результаты разработки и валидации методик количественного определения восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырье и глицирризиновой кислоты в абсолютно сухом сырье в ГС №2 методом спектрофотометрии.
4. Результаты изучения характеристик подлинности и показателей качества ГС №2 измельчённого и сбора-порошка.
5. Результаты определения антиоксидантной активности настоев сбора измельчённого и сбора-порошка.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пунктам 2, 3, 6.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Для подтверждения достоверности полученных результатов подобран необходимый объём экспериментального материала (в работе использовалось более 20 серий ГС №2 и его компонентов, приобретённых в аптечных сетях г. Москвы в период с 2019 по 2024 гг.). Исследования экспериментального характера проводились с использованием сертифицированных реактивов и растворителей, поверенного оборудования и приборов, работоспособность которых подтверждена свидетельствами о поверке. Многократные повторности экспериментов и их статистическая обработка подтверждают достоверность полученных первичных данных.

Основные результаты диссертационной работы доложены на:

- Международной конференции «China-Russia Young Scholars Seminar» (г. Москва, 2020);
- Международной конференции «The 3rd Annual Congress of IPharmS» (г. Москва, 2021);
- XXIV международном съезде ФИТОФАРМ 2023 (г. Санкт-Петербург, 2023);

- I международной конференции «Инновационные лекарственные средства: от молекулы до пациента» (г. Москва, 2024);

- IV Международной конференции «Фармация. Вызовы фармации» (г. Москва, 2024);

Апробация результатов диссертационного исследования состоялась на заседании научно-практической конференции кафедры фармацевтического естествознания, кафедры химии, кафедры фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 8 от 27.03.2025 г., г. Москва).

### **Внедрение результатов в практику**

Разработаны проекты фармакопейной статьи «Грудной сбор №2 измельчённый для приготовления настоя» (Приложение Б и Приложение В).

Результаты качественного и количественного определения БАС, разработка характеристик подлинности и доброкачественности ГС №2 и его компонентов использованы в учебном процессе кафедры фармацевтического естествознания (Акт внедрения № 544 от 20.11.2024, Приложение Г) и кафедры аналитической, физической и коллоидной химии (Акт внедрения № 548 от 20.11.2024, Приложение Д) Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Методика количественного определения восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырье используется для оценки качества сырья лекарственных растений в ООО «Сайнтифик Комплайнс» (Акт № 48–24 от 15.12.2024, Приложение Е).

### **Связь темы исследования с проблемным планом фармацевтических наук**

Диссертационная работа была выполнена в рамках плана и в соответствии с тематикой научно-исследовательской работы кафедры фармацевтического естествознания Института Фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по теме: «Фармакогностическое изучение лекарственного растительного сырья, лекарственных сборов, лекарственных форм из сырья и разработка методов их стандартизации с учетом влияния антропогенных факторов, оценки качества и сертификации» (номер государственной регистрации 01.2.006 06352).

### **Публикации по теме диссертации**

По результатам исследования автором опубликовано 13 работ, в том числе 4 научных статей в журналах, включённых в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского

Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук; 2 статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 4 иные публикации, 3 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

### **Структура и объём диссертации**

Диссертация изложена на 209 страницах машинописного текста, включая приложения 32 страницы. Работа состоит из введения, обзора литературы (Глава 1), шести глав, посвящённых экспериментальным исследованиям и обсуждению результатов, выводов к каждой главе, заключения, а также общих выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы (всего 149 источников, из них – 94 иностранных), 6 приложений. Диссертация содержит 56 рисунков, в том числе 50 в основном тексте работы и 6 – в приложениях, а также 63 таблицы.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Объекты и методы исследования**

Объектами исследования являлись 20 серий образцов ЛРС – ГС №2, фасованного в пачки картонные в измельчённом виде (измельчённое сырьё) и в фильтр-пакетах (сырьё-порошок), а также составляющие его компоненты – мать-и-мачехи обыкновенной листья, подорожника большого листья, солодки корни, выпускаемые АО «Красногорсклексследства» и ООО Фирма «Здоровье» и водные извлечения на их основе. Образцы были приобретены в аптечных сетях г. Москвы и Московской области в 2019-2024 гг.

Водные извлечения сбора измельчённого и сбора-порошка и его компонентов готовили в соответствии с инструкциями по применению и ОФС «Настои и отвары» ГФ РФ XV издания.

Анализ внешних признаков ГС №2 проводили в соответствии с ОФС «Сборы», ОФС «Листья», ОФС «Корни, корневища, луковичи, клубни, клубнелуковичи» ГФ РФ XV издания.

Анатомо-диагностические признаки сбора исследовали согласно требованиям ОФС.1.5.3.0003.15 ГФ XV издания. «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения». Также учитывались последние достижения в области микроскопического анализа ЛРС.

Исследование микроскопических признаков проводилось на микроскопе Leica DM1000 LED (окуляры 10х/ 20 мм; 10х / 22 мм; 10х / 25 мм; объективы план-ахромат 2.5х, 4х/5х, 10х, 20х, 40х, 50х Oil, 63х, 100х Oil; полуапохромат: 2.5х, 5х, 10х, 20х, 40х, 50х Oil, 63х, 100х Oil). Снимки фиксировали с помощью цифровой фотокамеры Leica. Обработка изображений проводилась в ПО «Leica Application Suite».

Предварительный скрининг основных групп БАС и индивидуальных соединений осуществляли с помощью качественных реакций согласно фармакопейным и нефармакопейным общепринятым методикам анализа. Водное извлечение ЛРС ГС №2 для выполнения качественных реакций готовили согласно ГФ РФ XIV изд. ФС.2.5.0027.15 «Мать-и-мачехи обыкновенной листья».

Методом ТСХ определяли качественный состав моносахаридов полисахаридных комплексов сбора. В качестве неподвижной фазы применяли силикагель 60 на алюминиевой (стеклянной) подложке без УФ-индикации (MERCK, Германия), 20 x 20 см.

Методом ТСХ определяли качественный состав фенольных соединений. Неподвижной фазой служили пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором (УФ 254) на алюминиевой или полимерной подложке размером 10 × 10 см (MERCK, Германия).

Содержание экстрактивных веществ в ГС №2, мать-и-мачехи обыкновенной листьях и солодки корнях определяли в соответствии с ГФ РФ XV изд. ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»» методика 1. Содержание экстрактивных веществ в подорожника большого листьях определяли в соответствии с ГФ РФ XIV изд. ФС.2.5.0032.15 «Подорожника большого листья».

Сухой остаток настоев ГС №2 и его компонентов определяли по методике ОФС «Настои и отвары» ГФ РФ XV издания.

Определение влажности ГС №2 и его компонентов проводилось согласно методике, приведённой в ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» ГФ РФ XV издания.

Определение золы общей ГС №2 и его компонентов проводили в соответствии с методикой, приведённой в ОФС «Зола общая» ГФ РФ XV издания.

Определение золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, осуществлялось согласно методике, приведенной в ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте» ГФ РФ XV издания.

Определение измельчённости и содержания органической и минеральной примесей сбора проводили по методике, приведенной в ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ РФ XV издания.

Определение содержания ПСХ в ГС №2 и его компонентах проводили методом гравиметрии в соответствии с методикой, представленной в ГФ РФ XIV изд. ФС.2.5.0032.15 «Подорожника большого листья».

Количественное определение суммы ПСХ и свободных сахаров в ГС №2 и его компонентах проводили в соответствии с ФС.2.5.0027.15 «Мать-и-мачехи обыкновенной листья»

на спектрофотометре ПЭ-5400 (ГК «Экрос», Россия). Толщина слоя кюветы 10 мм.

Для определения флавоноидов и гидроксикоричных кислот применяли метод ультраэффективной жидкостной хроматографии (УЭЖХ) с масс-селективным и УФ-детектированием (УЭЖХ-УФ-МС/МС) на хроматографе Waters Acquity (Waters Corporation, США). УФ-детектирование осуществляли при  $\lambda=220-550$  нм с помощью диодно-матричного УФ-детектора. МС/МС-детектирование осуществляли на тройном квадрупольном масс-спектрометрическом детекторе TQD (Waters Corporation, США) в чередующихся режимах регистрации положительных и отрицательных ионов.

Количественное определение ГК в ГС №2 и солодки корнях, а также водных извлечений на их основе проводили методом спектрофотометрии (СФМ) в соответствии с ГФ РФ XIV издания ФС.2.5.0040.15 «Солодки корни» на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия). Толщина слоя кюветы 10 мм.

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин определяли методом СФМ согласно методике ГФ РФ XIV издания ФС.2.5.0015.15 «Зверобоя трава» на спектрофотометре ПЭ-5400 (ГК «Экрос», Россия). Толщина слоя кюветы 10 мм.

Содержание дубильных веществ определяли в соответствии с ОФС.1.5.3.0008 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения», ГФ РФ XV издания, метод 1.

Определение аминокислот проводилось методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1100 (Agilent Technologies, США), оборудованном диодноматричным спектрофотометрическим и флуориметрическим детекторами.

Для определения состава жирных кислот в ГС №2 использовался метод газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором (ГХ-ПИД). Сбор и обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения Agilent ChemStation Rev.B.04.03 и «Microsoft Excel 2019» соответственно.

Анализ компонентного состава летучей фракции проводился методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС). Анализ проводили на газовом хроматографе Agilent Technologies 7890A (Agilent Technologies, США) с масс-детектором Agilent Technologies 5975C (Agilent Technologies, США).

Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка проводили с использованием масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7900 (Agilent Technologies). Мощность высокочастотного генератора плазмы – 1500 Вт, поток плазменного газа (аргон) – 15 л/мин, поток газа-распылителя (аргон) – 1,0 л/мин, скорость подачи пробы – 0,10 об./мин, количество повторностей – 5, время интегрирования – 0,1 с. Калибровку проводили в диапазоне 0,5-1,5 ПДК для каждого элемента. Для каждого образца готовили по три параллельных

испытываемых раствора. Итоговые величины концентраций определяли как среднее арифметическое измеренных значений.

Разработка и валидация методик количественного определения суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырье и глицирризиновой кислоты проводилась методом спектрофотометрии на спектрофотометре СФ-2000.

Валидацию аналитических методик проводили в соответствии с ГФ РФ XV издания ОФС «Валидация аналитических методик», а также с использованием справочных пособий.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась согласно требованиям ГФ XV издания ОФС «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» с использованием ПО Microsoft Office Excel 2019.

Для определения антиоксидантной активности настоев сбора использовали реакцию со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ). Исследование проводили спектрофотометрическим методом.

В работе использовались химически чистые стандартные образцы индивидуальных соединений.

### **Анализ внешних признаков грудного сбора №2**

При разработке характеристик подлинности ГС №2 для включения их в проектную нормативную документацию необходимо уточнение его внешних признаков, как для измельчённой формы, так и для сбор-порошка. В связи с этим проводилось исследование признаков ГС №2 и его компонентов, выпускаемых в пачках с внутренним пакетом и фильтр-пакетами. Анализ проводили невооружённым глазом и с применением бинокля (увеличение 8х).

При рассмотрении измельчённого ГС №2 невооружённым глазом обнаруживаются кусочки сырья различной формы зелёного или желтовато-зелёного цвета. При исследовании ГС №2 измельчённого с помощью бинокля (увеличение 8х) идентифицируются все три компонента (Рисунок 1).

При рассмотрении невооружённым глазом и с помощью бинокля (увеличение 8х) внешних признаков ГС №2 сбора-порошка видна смесь неоднородных частиц растительного происхождения (листовых пластинок, черешков, кусочков корней) светло-зелёного, зеленовато-белого, серовато-зеленого, жёлтого цвета с коричневыми, коричневато-желтыми или фиолетовыми вкраплениями.

Исследование компонентов сбора проводили невооружённым глазом и с помощью бинокля (увеличение 8х), отделяя в пробе кусочки составляющих сбора с помощью пинцета

согласно ОФС «Сборы», ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», ОФС «Листья», ОФС «Корни, корневища, луковицы, клубни, клубнелуковицы» ГФ РФ XV издания.



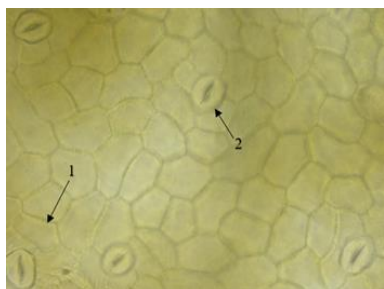
Рисунок 1 – Внешний вид грудного сбора №2 при рассмотрении невооружённым глазом (А) и с использованием бинокля (увеличение 8×) (Б): 1 – мать-и-мачехи обыкновенной листья; 2 – подорожника большого листья; 3 – солодки корни

В результате исследования были дополнены и уточнены некоторые признаки ГС №2, выпускаемого в пачках (сбор измельчённый) и фильтр-пакетах (сбор-порошок). Компонент сбора мать-и-мачехи обыкновенной листья идентифицируется по кусочкам листовых пластинок зелёного или желтовато-зелёного цвета различной формы, с нижней стороны беловойлочно опушенных, с мелкоямчатой поверхностью, кусочкам фиолетово-зелёных или коричневато-фиолетовых черешков. Подорожника большого листья идентифицируются по кусочкам листовых пластинок с неровной поверхностью от светло-зелёного до коричневато-зелёного цвета и черешков светло-коричневого или коричневого цвета, часто с фиолетовым оттенком. К характерным внешним признакам солодки корней можно отнести кусочки сырья различной формы, как правило, волокнистые от коричневато-жёлтого с незначительными остатками пробки до жёлтого, коричневато-жёлтого с остатками пробки коричневого.

### Микроскопический анализ грудного сбора №2

Были дополнены и уточнены анатомо-диагностические признаки, по которым можно идентифицировать отдельные компоненты сбора измельчённого и сбора-порошка:

1. Мать-и-мачехи обыкновенной листья: аномоцитный устьичный комплекс (от трёх до пяти овальных замыкающих клеток устьиц), бичевидные многоклеточные волоски с длинной шнуrowидной конечной клеткой, аэренхима из однорядных клеток, расположенных цепочками (Рисунки 1-4);



1 – складчатость кутикулы, 2 – устьичный комплекс аномоцитного типа

Рисунок 2 – Фрагмент верхнего эпидермиса листа мать-и-мачехи, (100×)



1 – складчатость кутикулы; 2 – устьичный комплекс аномоцитного типа; 3 – конечная шнуровидная клетка бичевидных волосков

Рисунок 3 – Фрагмент нижнего эпидермиса листа мать-и-мачехи, (100×)

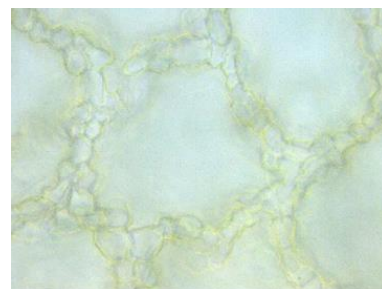
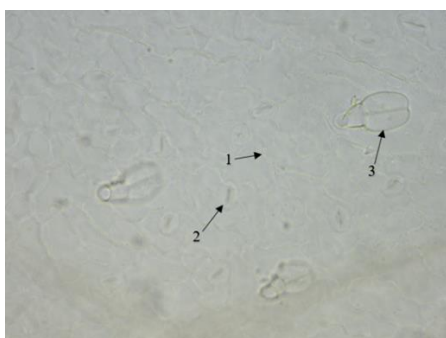


Рисунок 4 – Фрагмент аэренхимы листа мать-и-мачехи обыкновенной, (400×)

2. Подорожника большого листья: аномоцитный устьичный комплекс, головчатые волоски на одноклеточной ножке и с двухклеточной головкой (Рисунок 5);



1 – складчатость кутикулы; 2 – устьичный комплекс аномоцитного типа; 3 – головчатый волосок на одноклеточной ножке и двухклеточной головке

Рисунок 5 – Фрагмент нижнего эпидермиса листа подорожника большого, (100×)

3. Солодки корни: механические волокна с кристаллоносной обкладкой, призматические кристаллы оксалатов кальция в паренхиме коры, сосуды древесины с окаймленными щелевидными порами, членики сосудов бочковидной формы. (Рисунки 6-8).

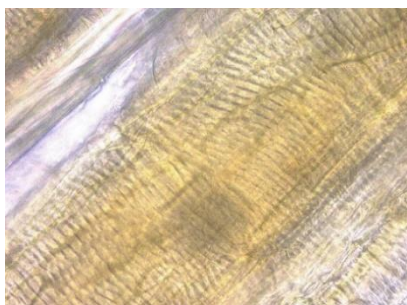


Рисунок 6 – Фрагмент сетчатых сосудов с окаймлёнными щелевидными порами солодки корней, (400×)



Рисунок 7 – Фрагмент клеток паренхимы коры с призматическими кристаллами оксалата кальция солодки корней, (400×)



Рисунок 8 – Фрагмент механических волокон с кристаллоносной обкладкой солодки корней, (400×)

### **Идентификация биологически активных соединений грудного сбора №2**

Согласно данным научной литературы химический профиль ГС №2 представлен различными группами БАС, основными из которых являются полисахариды, фенольные соединения, сапонины.

Предварительный скрининг БАС проводили с помощью фармакопейных и нефармакопейных общепринятых качественных реакций.

В ходе предварительного фитохимического анализа было выявлено в ЛРС ГС №2 и его настое содержание комплекса различных групп БАС: полисахариды, простые сахара, галактуроновая кислота, флавоноиды, аминокислоты, сапонины, дубильные вещества.

### **Идентификация сахаров в грудном сборе №2 методом ТСХ**

В результате идентификации простых сахаров ГС №2 методом ТСХ на хроматограмме испытуемого раствора ГС №2 обнаружены 2 зоны адсорбции сероватого цвета в нижней трети пластинки на уровне СО галактуроновой кислоты ( $R_f=0,22$ ) и ниже ( $R_f=0,18$ ); 4 зоны адсорбции коричневатого цвета в средней трети пластинки - нижняя с  $R_f=0,34$ , на уровне СО галактозы ( $R_f=0,37$ ), на уровне СО глюкозы ( $R_f=0,40$ ) и верхняя с  $R_f=0,43$ ; 4 зоны адсорбции в верхней трети пластинки розового или красного цвета – нижняя на уровне СО ксилозы ( $R_f=0,55$ ), зона адсорбции с  $R_f=0,57$ , на уровне СО рамнозы ( $R_f=0,60$ ) и на уровне СО арабинозы ( $R_f=0,65$ ).

### **Изучение химического состава основных групп биологически активных соединений грудного сбора №2, его составляющих и настоев на их основе**

В результате определения флавоноидов и гидроксикоричных кислот методом ТСХ в ГС №2, настой на его основе и компонентах сбора обнаружено: на хроматограмме спирто-водного извлечения из ГС №2 (испытуемого раствора) наблюдаются зоны адсорбции голубого, коричневого, жёлтого цвета в средней и верхней третях пластинки; на хроматограмме испытуемого раствора в верхней и нижней трети пластинки обнаружены зоны адсорбции голубого и коричневого цвета на уровне зон адсорбции извлечения из солодки корней, что доказывает наличие данного компонента в составе сбора; на хроматограмме испытуемого раствора обнаружены зоны адсорбции голубого и коричневого цвета в нижней и верхней трети пластинки на уровне зон адсорбции на хроматограмме извлечения из подорожника большого листьев, что доказывает присутствие указанного компонента в составе сбора; на хроматограмме испытуемого раствора обнаружены зоны адсорбции жёлтого и голубого цвета в нижней, средней и верхней третях пластинки на уровне зон на хроматограмме извлечения из мать-и-мачехи обыкновенной листьев, что подтверждает наличие данного компонента в составе сбора (Рисунок 9).

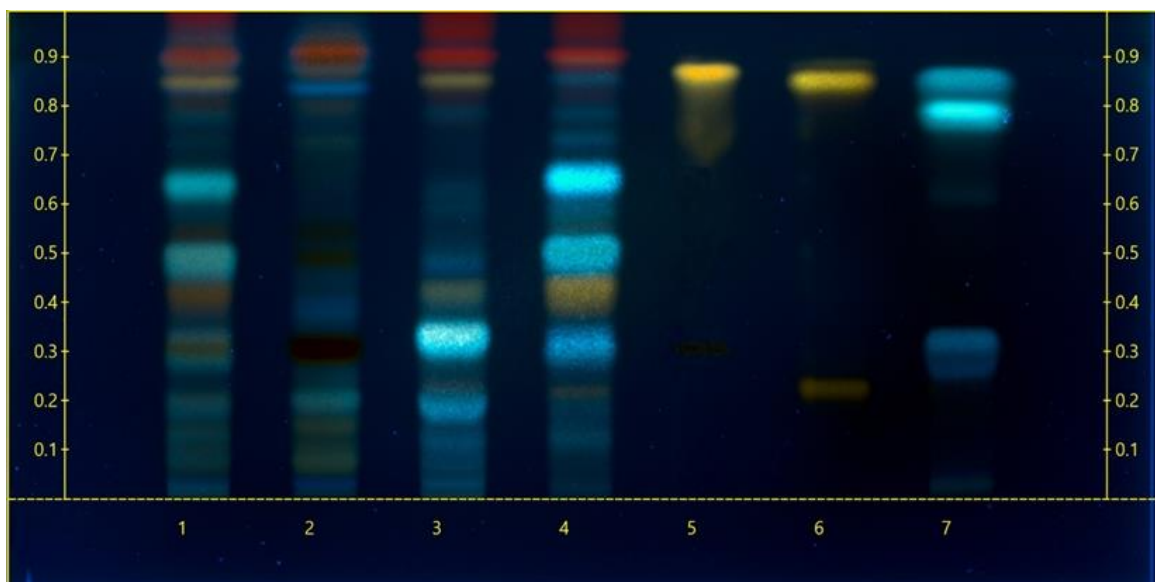


Рисунок 9 – Хроматограмма спирто-водных извлечений ГС №2 и его компонентов после опрыскивания раствором для детектирования 1 и 2 (просмотр при 365 нм). 1 – грудной сбор №2; 2 – солодки корни; 3 – подорожника большого листья; 4 – мать-и-мачехи обыкновенной листья; 5 – смесь стандартов №1 (СО кверцетина); 6 – смесь стандартов №2 (СО рутина и лютеолина); 7 – смесь стандартов №3 (СО хлорогеновой, розмариновой и кофейной кислот)

В результате анализа 70 % метанольного извлечения из ГС №2 методом УЭЖХ-УФ-МС/МС были выявлены флавоноиды (кверцетин, изокверцетин, производные ликвиритигенина, производные кемпферола), гидроксикоричные кислоты (производные хинной, кофейной кислот, включая хлорогеновую кислоту), сапонины (ГК, ликвориссапонины).

Результаты количественного определения основных БАС ГС №2, его компонентов и настоев на их основе представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Результаты определения основных групп БАС ГС №2, его компонентов и настоев на их основе, в пересчёте на сухое сырьё (средние значения)

| Показатель                                               | Объект     |       |       |            |                |
|----------------------------------------------------------|------------|-------|-------|------------|----------------|
|                                                          | Л. м.-и-м. | Л. п. | К. с. | ГС №2 КГЛС | ГС №2 Здоровье |
| <i>Измельчённое ЛРС, выпускаемое в пачках</i>            |            |       |       |            |                |
| Сумма полисахаридов, %                                   | 11,76      | 13,84 | 4,50  | 9,29       | 9,55           |
| Сумма полисахаридов и свободных сахаров, %               | 18,19      | 20,54 | 7,00  | 12,38      | 11,87          |
| Глицирризиновая кислота, %                               | -          | -     | 10,79 | 4,81       | 4,81           |
| Сумма флавоноидов, %                                     | 1,34       | 0,97  | 1,99  | 1,73       | 1,63           |
| Сумма дубильных веществ, %                               | 3,04       | 5,20  | 0,85  | 3,49       | 3,41           |
| <i>ЛРС-порошок, выпускаемое в фильтр-пакетах</i>         |            |       |       |            |                |
| Сумма полисахаридов, %                                   | 11,47      | 13,74 | 4,57  | 9,05       | 9,45           |
| Сумма полисахаридов и свободных сахаров, %               | 18,50      | 20,50 | 6,90  | 4,58       | 4,60           |
| Глицирризиновая кислота, %                               | -          | -     | 10,10 | 1,99       | 1,99           |
| Сумма флавоноидов, %                                     | 1,23       | 0,86  | 1,87  | 1,65       | 1,54           |
| Сумма дубильных веществ, %                               | 3,03       | 5,33  | 0,75  | 3,59       | 3,48           |
| <i>Настой измельчённого ЛРС, изготовленный по ИМП ЛП</i> |            |       |       |            |                |
| Сумма полисахаридов, %                                   | 1,17       | 1,51  | 0,44  | 0,99       | 1,12           |
| Сумма полисахаридов и свободных сахаров, %               | 1,89       | 2,29  | 0,79  | 1,39       | 1,31           |

Продолжение Таблицы 1

|                                                                                       |      |       |      |       |       |
|---------------------------------------------------------------------------------------|------|-------|------|-------|-------|
| Глицирризиновая кислота, %                                                            | -    | -     | 1,25 | 0,51  | 0,48  |
| Сумма флавоноидов, %                                                                  | 0,25 | 0,13  | 0,40 | 0,27  | 0,23  |
| Сумма дубильных веществ, %                                                            | 0,34 | 0,84  | 0,10 | 0,43  | 0,39  |
| <i>Настой измельчённого ЛРС, изготовленный в соответствии с ОФС «Настои и отвары»</i> |      |       |      |       |       |
| Сумма полисахаридов, %                                                                | 4,97 | 6,33  | 1,11 | 3,32  | 3,54  |
| Сумма полисахаридов и свободных сахаров, %                                            | 8,40 | 10,49 | 1,91 | 5,68  | 5,30  |
| Глицирризиновая кислота, %                                                            | -    | -     | 3,99 | 1,80  | 1,71  |
| Сумма флавоноидов, %                                                                  | 0,51 | 0,32  | 0,68 | 0,60  | 0,58  |
| Сумма дубильных веществ, %                                                            | 1,59 | 3,00  | 0,23 | 1,89  | 1,84  |
| <i>Настой ЛРС-порошка, изготовленный по ИМП ЛП</i>                                    |      |       |      |       |       |
| Сумма полисахаридов, %                                                                | 1,15 | 1,40  | 0,52 | 0,90  | 1,04  |
| Сумма полисахаридов и свободных сахаров, %                                            | 1,90 | 2,16  | 0,72 | 1,46  | 1,24  |
| Глицирризиновая кислота, %                                                            | -    | -     | 1,10 | 0,40  | 0,36  |
| Сумма флавоноидов, %                                                                  | 0,19 | 0,12  | 0,34 | 0,20  | 0,18  |
| Сумма дубильных веществ, %                                                            | 0,28 | 0,94  | 0,10 | 0,44  | 0,38  |
| <i>Настой ЛРС-порошка, изготовленный в соответствии с ОФС «Настои и отвары»</i>       |      |       |      |       |       |
| Сумма полисахаридов, %                                                                | 4,70 | 6,22  | 1,17 | 3,24  | 3,42  |
| Сумма полисахаридов и свободных сахаров, %                                            | 8,67 | 10,00 | 1,75 | 13,00 | 13,70 |
| Глицирризиновая кислота, %                                                            | -    | -     | 3,72 | 1,60  | 1,53  |
| Сумма флавоноидов, %                                                                  | 0,45 | 0,27  | 0,63 | 0,56  | 0,51  |
| Сумма дубильных веществ, %                                                            | 1,54 | 3,08  | 1,54 | 1,89  | 1,79  |

Примечание: ГС №2 КГЛС – ГС №2 производства АО «Красногорсклесредства», ГС №2 Здоровье – ГС №2 производства ООО фирма «Здоровье», л. м.-и-м. – листья мать-и-мачехи обыкновенной, л. п.б. – листья подорожника большого, к. с. – корни солодки

**Аминокислотный состав.** Обнаружено 13 аминокислот в ГС №2, 6 из которых являются незаменимыми (гистидин, аргинин, изолейцин, триптофан, лейцин, лизин). В качестве мажорных аминокислот, которые можно достоверно идентифицировать при определении аминокислотного профиля ГС №2, могут быть пролин, аспарагиновая кислота, аланин, тирозин.

**Жирнокислотный состав.** В ГС №2 идентифицированы 24 жирные кислоты с преобладанием ненасыщенных (62,26 %) над насыщенными (37,32 %). Превалирующими оказались пальмитиновая (24,81 %), линолевая (18,39 %) и  $\alpha$ -линоленовая кислоты (26,86 %).

**Летучие органические вещества.** В ГС №2 обнаружено 91 соединение. Превалируют карвон (23,439 %), изоментон (7,561 %), изооктениловый спирт (5,850 %), анетол (4,388 %), гексиловый спирт (3,368 %), ментанон (2,965 %), цис-гекс-3-ениловый спирт (2,748 %), бензальдегид (2,701 %), пулегон (2,544 %), линалоол (2,526 %),  $\alpha$ -туйон (2,347 %). Гексановая кислота, анетол, эстрагол, карвакрол, 1,8-цинеол, бензальдегид, тимол, октаналь, гексанол, пара-цимен-8-ол,  $\alpha$ -терпинеол, пулегон, спатуленол,  $\alpha$ -фелландрен и гептаналь могут рассматриваться в качестве маркерных.

**Элементный состав.** В результате анализа элементного состава ГС №2 методом ИСП-МС определено содержание 26 элементов, среди которых преобладают калий ( $2243,00 \pm 22,38$  мг/кг), кальций ( $885,03 \pm 17,89$  мг/кг), магний ( $158,59 \pm 2,92$  мг/кг). Согласно полученным результатам,

ЛРС в составе ГС №2 богато биологически активными макро-, микро- и ультрамикроэлементами. Выявлены ряды накопления элементов в порядке уменьшения средних значений их содержания:  $K > Ca > Mg > Na$  (макроэлементы);  $Fe > Al > Sr > Mn > B > Zn > Cu$  (микроэлементы);  $Ba > Ni > Cr > Mo > Li > Se > V > Co > Pd > Ga > Ag$  (ультрамикроэлементы).

### Разработка и валидация методик количественного определения

В состав БАС ГС №2 входят ПСХ и ГК, ответственные за фармакологический эффект сбора. Разработаны и валидированы методики количественного определения суммы восстанавливающих сахаров в составе ПСХ в пересчёте на глюкозу и ГК методом СФМ.

Для определения суммы восстанавливающих сахаров в составе ПСХ применяли антроновый метод, основанный на расщеплении ПСХ до моносахаридов в сильноокислой среде с последующей их дегидратацией и образованием оксиметилфурфурола, образующего при реакции с антроном комплексное соединение синевато-зеленого цвета.

При разработке методики определения суммарного содержания восстанавливающих сахаров в составе ПСХ ГС №2 учитывались следующие параметры: степень измельчённости сырья, используемый экстрагент и его концентрация, кратность экстрагирования, соотношение сырья и экстрагента, оптимальное время экстракции, соотношение объёмов извлечения-комплексообразователь. Валидация методики проводилась по разделам: линейность, правильность, повторяемость, внутрилабораторная прецизионность (Рисунки 10-11, Таблица 2).

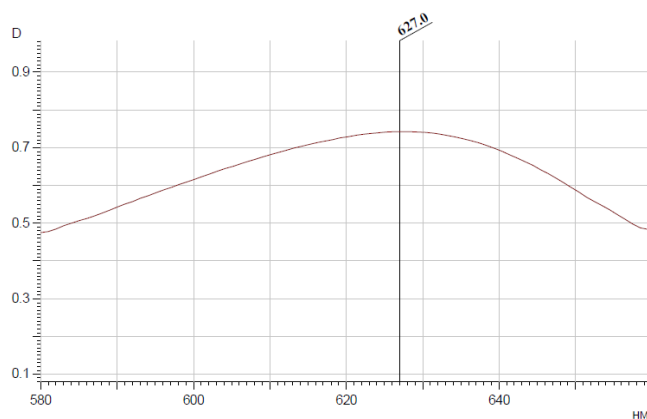


Рисунок 10 – Спектр поглощения комплекса восстанавливающих сахаров сбора с антрон-сернистым реактивом при  $627 \pm 2$  нм

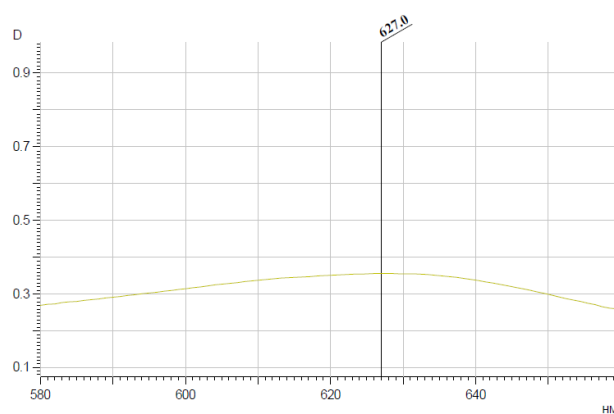


Рисунок 11 – Спектр поглощения СО глюкозы с антрон-сернистым реактивом при  $627 \pm 2$  нм

Таблица 2 – Метрологические характеристики методики анализа ( $P = 95 \%$ ;  $n = 6$ )

| f | $\bar{x}_{cp}$ | $S^2$ | S    | t(P,t) | $\Delta x$ | $\varepsilon_{cp}, \%$ | RSD, % |
|---|----------------|-------|------|--------|------------|------------------------|--------|
| 5 | 6,29           | 0,008 | 0,09 | 2,57   | 0,05       | 0,74                   | 1,42   |

При установлении содержания ГК в ГС №2 изучали влияние наиболее оптимальных условий анализа по следующим параметрам: степень измельчённости сырья, соотношение сырья

и экстрагента, кратность экстракции горячим ацетоном, время экстракции горячим ацетоном. Валидация методики количественного определения ГК проводилась по разделам: линейность, правильность, повторяемость, внутрилабораторная прецизионность (Рисунки 12-13, Таблица 3).

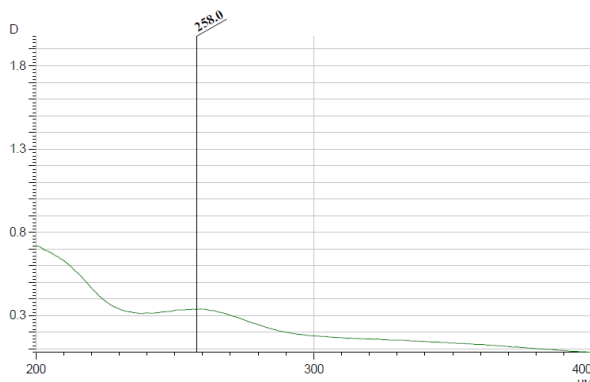


Рисунок 12 – УФ-спектр испытуемого раствора ГК №2 при  $258\pm 2$  нм

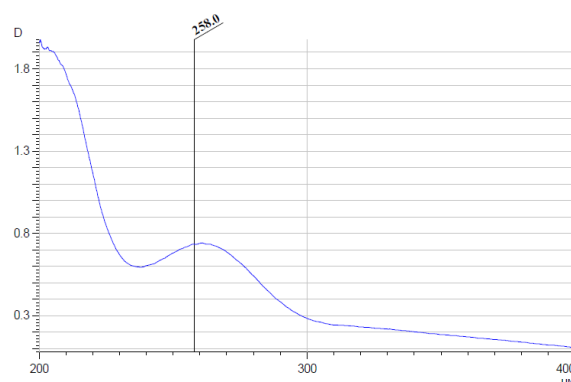


Рисунок 13 – УФ-спектр СО 18β-глицирризиновой кислоты при  $258\pm 2$  нм

Таблица 3 – Метрологические характеристики методики анализа ( $P = 95 \%$ ;  $n = 6$ )

| f | $\bar{x}_{\text{ср}}$ | $S^2$ | S    | t(P,t) | $\Delta x$ | $\varepsilon_{\text{ср}}, \%$ | RSD, % |
|---|-----------------------|-------|------|--------|------------|-------------------------------|--------|
| 5 | 5,26                  | 0,002 | 0,04 | 2,57   | 0,02       | 0,39                          | 0,84   |

### Разработка показателей качества грудного сбора №2

В работе уточнены некоторые показатели качества ГК №2 (влажность, зола общая, и др.), а также предложены показатели, позволяющие оценить содержание некоторых групп БАС и отдельных соединений, оказывающих фармакологическое действие (Таблица 4).

Таблица 4 – Основные показатели качества грудного сбора №2 и настоя на его основе

| Наименование показателя                               | Среднее значение |              | Предлагаемая норма (для ЛРС) |
|-------------------------------------------------------|------------------|--------------|------------------------------|
|                                                       | ГК №2            | Настой ГК №2 |                              |
| Влажность                                             | 9,46 %           | -            | Не более 13,0 %              |
| Зола общая                                            | 13,07 %          | -            | Не более 18,0 %              |
| Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте 10 % | 3,76 %           | -            | Не более 10,0 %              |
| Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями 7 мм  | 3,04 %           | -            | Не более 5,0 %               |

По результатам анализа стабильности ГК №2 за 3 года установлены нормы: «Сумма восстанавливающих сахаров в составе ПСХ в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырье» – не менее 5 %, «Содержание ГК в абсолютно сухом сырье» – не менее 4,0 %.

### Определение антиоксидантной активности настоев грудного сбора №2

Доказана выраженная антиоксидантная активность настоев ГК №2. Значения полуингибирующей концентрации  $IC_{50}$  настоя ГК №2 измельчённого –  $20,83\pm 1,04$  мкг/мл; настоя ГК №2 сбора-порошка –  $28,65\pm 1,12$  мкг/мл. Таким образом, антиоксидантная активность настоя ГК №2 измельчённого выше, чем настоя ГК №2 сбора-порошка.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из перспективных и важных направлений фармацевтического комплекса является разработка и совершенствование нормативной документации на лекарственные препараты, которые положительно зарекомендовали себя с точки зрения эффективности и безопасности. Среди таких препаратов можно выделить и лекарственные растительные сборы, которые много лет находят применение в комплексной терапии заболеваний различного генеза, в том числе и респираторные.

В комплексной терапии заболеваний дыхательных путей наряду с синтетическими лекарственными средствами широко применяются препараты растительного происхождения. Они могут представлять собой как монокомпонентные средства, так и многокомпонентные ЛРП. Одним из примеров последних является ГС №2, выпускаемый в пачках картонных с внутренним пакетом (измельчённая форма) или в фильтр-пакетах (порошок). Компоненты сбора богаты полисахаридами и представлены листьями мать-и-мачехи обыкновенной (*Tussilago farfara*), листьями подорожника большого (*Plantago major*) и корнями солодки (*Glycyrrhiza glabra*). Это фармакопейное сырьё, имеющее богатый опыт применения и высокую доказательную базу с точки зрения их фармакологического действия.

Помимо полисахаридов, компоненты сбора содержат также флавоноиды, сапонины (в основном глицирризиновую кислоту), дубильные вещества – группы БАС, которые переходят в лекарственную форму сбора – настой.

Однако вопросам стандартизации ГС №2 и его компонентов сегодня уделяется недостаточно внимания.

Экспериментально установлено, что при приготовлении настоя в заданном разведении водорастворимые БАС ГС №2 – полисахариды, глицирризиновая кислота и флавоноиды, ответственные за терапевтическое действие, – переходят в водную фазу в достаточном количестве. Данные положения обоснованы результатами изучения химического профиля ГС №2 и его водного извлечения, выполненного авторами в настоящей работе. Проведена идентификация основных групп БАС: сахаров методом ТСХ, индивидуальных соединений из групп флавоноидов, гидроксикоричных кислот, сапонинов методами ТСХ и УЭЖХ-УФ-МС/МС. Методом гравиметрии выполнен анализ содержания ПСХ. Методом спектрофотометрии определяли содержание суммы ПСХ и свободных сахаров; ГК; суммы флавоноидов. Определение суммы дубильных веществ в пересчёте на танин осуществляли методом титриметрии. С использованием комплекса инструментальных методов анализа проводили идентификацию и количественное определение аминокислот, жирных кислот, летучих соединений, элементного состава и тяжёлых металлов. Дополнительно проведена оценка АОА

водных извлечений сбора.

Для анализа содержания основных БАС (восстанавливающих сахаров в составе ПСХ и глицирризиновой кислоты) в ГС №2 разработаны и валидированы СФМ методики.

По итогам выполненной работы подготовлены проекты ФС на ГС №2, которые могут быть рекомендованы для включения в ГФ РФ. Полученные экспериментальные данные и их статистическая обработка представляют интерес для дальнейших исследований, направленных на создание новых лекарственных форм на основе данной растительной композиции.

## **ОБЩИЕ ВЫВОДЫ**

1. Проведён анализ отечественных и зарубежных литературных источников, а также нормативной документации, регламентирующей качество ЛРС. В результате обзора выявлена необходимость совершенствования подходов к стандартизации ГС №2 и его водных извлечений. Установлено, что существующие методы контроля (определение суммы экстрактивных веществ, гравиметрическое определение полисахаридов) не в полной мере отражают содержание основных групп БАС, таких как полисахариды и глицирризиновая кислота, входящих в состав компонентов сбора. Обоснована целесообразность разработки новых методик количественного анализа указанных веществ.

2. Разработаны показатели подлинности ГС №2 измельчённого и сбора-порошка для включения в проекты ФС. Представлена подробная характеристика внешних признаков обеих форм, а также описаны диагностические признаки, позволяющие идентифицировать отдельные компоненты в составе многокомпонентного сбора.

Установлена совокупность анатомо-диагностических признаков, позволяющая достоверно идентифицировать ЛРС в составе сбора, при микроскопическом исследовании двух форм ГС №2 (измельчённое сырьё и сбор-порошок). Для листьев мать-и-мачехи характерны: устьичный аппарат аномоцитного типа; трихомы в виде бичевидных многоклеточных волосков, оканчивающихся длинной шнуровидной клеткой; наличие аэренхимы. Для листьев подорожника диагностическое значение имеют: аномоцитный тип устьичного комплекса; железистые волоски, представленные одноклеточной ножкой и двухклеточной головкой. Специфические анатомо-диагностические признаки солодки корней: механические волокна с кристаллоносной обкладкой, призматические кристаллы оксалатов кальция в паренхиме коры, сосуды древесины с окаймленными щелевидными порами.

3. С помощью качественных реакций и ТСХ подтверждено наличие в ГС №2 ПСХ, GalA, простых сахаров (галактозы, арабинозы, ксилозы, глюкозы, рамнозы), сапонинов, гидроксикоричных кислот (хлорогеновая, розмариновая, кофейная кислоты), флавоноидов (рутин, лютеолин), дубильных веществ, сапонинов, аминокислот. Методом УЭЖХ-УФ-МС/МС

детально изучены сапонины (глицирризиновая кислота, ликвориссапонины), гидроксикоричные кислоты (производные хинной, кофейной кислот, включая хлорогеновую кислоту), флавоноиды (кверцетин, изокверцетин, производные ликвиритигенина, производные кемпферола). Установлено содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой (26,12-29,34 %), сухого остатка (1,68-9,63 %), полисахаридов (8,33-10,02 % для ЛРС; 0,82-3,84 % для настоя); глицирризиновой кислоты (4,39-5,07 % для ЛРС; 0,33-1,89 % для настоя); флавоноидов (1,48-1,74 % для ЛРС; 0,16-0,61 % для настоя); дубильных веществ (3,32-3,69 % для ЛРС; 0,34-1,93 % для настоя). В ходе работы проведён анализ макро- и микроэлементов, а также тяжёлых металлов в ГС №2. Установлено, что содержание тяжёлых металлов и мышьяка не превышает предельно допустимое содержание. Дополнительно изучен аминокислотный состав, определено содержание жирных кислот и компонентов летучей фракции. Оценён вклад каждого вида сырья, входящего в композицию сбора, в суммарное содержание исследуемых групп БАС и индивидуальных веществ. В работе продемонстрировано, что основные группы БАС, ответственные за фармакологическую активность, эффективно переходят в настой.

4. В рамках стандартизации ГС №2 предложены спектрофотометрические способы количественного анализа двух групп БАС: восстанавливающих сахаров в составе ПСХ и ГК. Пригодность разработанных методик проверялась в ходе валидационной оценки по ряду критериев. Все исследованные параметры соответствуют критериям приемлемости. Разработанные методики включены в проекты фармакопейных статей на ГС №2 (Приложения Б, В).

5. Установленные в ходе исследования показатели качества для двух форм ГС №2 (измельчённое сырьё и сбор-порошок) легли в основу проектов ФС (Приложения Б, В). К числу нормируемых показателей качества отнесены: влажность, зола общая, зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, измельчённость, органическая примесь, минеральная примесь, экстрактивные вещества, извлекаемые водой (сухой остаток для настоя). Помимо этого, в ходе исследования стабильности сбора проанализирована динамика содержания восстанавливающих сахаров и глицирризиновой кислоты.

6. Проведена оценка антиоксидантной активности настоя грудного сбора №2 измельчённого ( $IC_{50}=20,83\pm 1,04$  мкг/мл) и настоя грудного сбора №2 сбора-порошка ( $IC_{50}=28,65\pm 1,12$  мкг/мл).

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Предложенные в диссертации методические решения по анализу глицирризиновой кислоты и полисахаридов в грудном сборе №2 могут служить основой для совершенствования нормативной документации на данный ЛРП. Полученные аналитические решения целесообразно использовать в повседневной практике испытательных лабораторий при проведении входного

контроля растительного сырья и анализа готовых ЛФ. Кроме того, разработанные алгоритмы допускают адаптацию для стандартизации иных многокомпонентных лекарственных средств растительного происхождения со схожим составом биологически активных веществ.

### ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Накопленный в работе массив данных создает базу для решения ряда прикладных задач. В первую очередь, это касается модернизации существующих ЛФ сбора – как измельченного сырья, так и сырья-порошка – с целью повышения их терапевтической эффективности и стабильности при хранении. Перспективным направлением также является разработка новых препаратов на основе ГС №2, включая жидкие экстракционные формы (настои, настойки) и комбинированные средства с пролонгированным высвобождением действующих веществ. Кроме того, обоснованные в работе показатели качества могут служить отправной точкой для разработки нормативной документации на грудной сбор №2.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Чевидает, В.В.** Фармакопейная оценка качественного состава водорастворимых биологически активных соединений (БАС) и содержания полисахаридов в грудном сборе №2 / **В.В. Чевидает, Д.О. Боков, А.В. Фарыгин, Т.Д. Рендюк, И.А. Самылина, V. Janulis** // Известия ГГТУ. Медицина, фармация. – 2020. – №4. – С. 295-298.

2. Bokov, D.O. Polysaccharides of crude herbal drugs as a group of biologically active compounds in the field of modern pharmacognosy: physicochemical properties, classification, pharmacopoeial analysis / D.O. Bokov, I.A. Samylyna, **V.V. Chevidaeu**, S.D. Kakhramanova, D.M. Sokhin, E.S. Klyukina, T.D. Rendyuk, I.I. Krasnyuk (junior), V.V. Bessonov, R.I. Sharipova, O.G. Potanina, A.V. Nikulin, R.A. Nasser, V. Janulis // Systematic Reviews in Pharmacy. – 2020. – Т. 11. – № 6. – С. 206-212.

3. **Chevidaeu, V.V.** Methodical Basis for Analysis of Monosaccharide Profile of the Polysaccharide Complex in the Mixture Herbal Product (*Pectorales Species No 2*) / **V. V. Chevidaeu**, D. O. Bokov, I. A. Samylyna, O. G. Potanina, A. V. Nikulin, R. A. Nasser, D. M. Sokhin, E. V. Sergunova, N. V. Bobkova, T. Yu. Kovaleva, T. D. Rendyuk, V. Janulis, S. L. Morokhina, V. V. Grikh, I. I. Krasnyuk, E. K. Galiakhmetova, D. V. Moiseev // Systematic Reviews in Pharmacy. – 2020. – Т. 11. – №. 6. – С. 213-220.

4. Chromchenkova, E.P. Coltsfoot Leaves (*Tussilago farfara* L.) A Promising Source of Essential Amino Acids / E. P. Chromchenkova, D. O. Bokov, V. V. Bessonov, I. A. Samylyna, S. D. Kakhramanova, **V. V. Chevidaeu**, D. M. Sokhin, N. P. Balobanova, A. A. Evgrafov, J. I. Krasnyuk, N. V. Kudashkina, E. K. Galiakhmetova, A. I. Marakhova, D. V. Moiseev // **Systematic Reviews in Pharmacy**. – 2020. – Т. 11. – №. 6. – С. 221-225. [Scopus] Q2

5. **Чевидает, В.В.** Углеводный состав полисахаридов грудного сбора № 2 / **В.В. Чевидает, Д.О. Боков, И.А. Самылина** // **Фармация**. –2021. –Т.70. –№.2. – С.11-7.

6. **Чевидает, В. В.** Определение профиля основных биологически активных соединений грудного сбора № 2 / **В.В. Чевидает, Д.О. Боков, И.А. Самылина** //Перспективы внедрения

инновационных технологий в медицине и фармации. – 2021. – С. 264-267.

7. **Чевидает, В.В.** Стандартизация грудного сбора №2: современное состояние и перспективы / **В.В. Чевидает, Д.О. Боков, И.А. Самылина** // **Аспирантский вестник Поволжья.** – 2021. - № 5-6. С. 141-149.

8. **Чевидает, В.В.** Аминокислотный состав грудных сборов №1 и №2 и настоев на их основе / **В.В. Чевидает, С.Д. Кахраманова, Д.О. Боков** // **Фармация.** – 2022. – Т. 71. – №. 1. – С. 33-38.

9. **Chevidae, V.V.** Mineral elements and heavy metals in plant composition *Pectorales species* No. 2 / **V. V. Chevidae, D. O. Bokov, I. A. Samylina, A. V. Strelyaeva, T. D. Rendyuk** // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2023. – V. 1229. – №. 1. – P. 012029.

10. **Chevidae, V.V.** Determination of the marker compounds for standardization of *Pectorales species* No. 2 / **V.V. Chevidae, D.O. Bokov, I.A. Samylina** // *Phytopharm* 2023. – 2023. – P. 24.

11. **Чевидает, В.В.** Исследование элементного состава грудного сбора № 2 и его компонентов / **В.В. Чевидает, Д.О. Боков, И.В. Гравель, И.А. Самылина**// **Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.** – 2024. – Т. 14. – №. 2. – С. 171-180.

12. **Chevidae, V.V.** Volatile compounds and fatty acids of mixture herbal product *Pectorales species* No. 2 / **V. V. Chevidae, D. O. Bokov, A. D. Malinkin, M. A. Makarenko, V. V. Bessonov, E. S. Klyukina, D. A. Konovalchik, A. A. Bondar, O. I. Stepanova, L. M. Yakubovich, M. O. Malysheva, A. N. Luferov, I. A. Samylina** // **Research Journal of Pharmacy and Technology.** – 2024. – V. 17. – №. 11. – P. 5412-5416. [Scopus] Q2

13. **Чевидает, В.В.** Лекарственные растительные препараты и лекарственные средства растительного происхождения для комплексной терапии и реабилитации пожилых пациентов с ХОБЛ / **В. В. Чевидает, М. Н. Родин, Д. О. Боков, В. В. Бессонов, И. А. Самылина** // **Фармация.** – 2025. – № 1. – С. 13-21.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БАС – биологически активные соединения

ГК – глицирризиновая кислота

ГС №2 – грудной сбор №2

ГФ РФ – Государственная фармакопея Российской Федерации

ГХ-МС – газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектором

ГХ-ПИД – газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектированием

ИСП-МС – масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой

ЛРП – лекарственный растительный препарат

ЛРС – лекарственное растительное сырьё

ПСХ – полисахариды

СФМ – спектрофотометрия

ТСХ – тонкослойная хроматография

УЭЖХ-УФ-МС/МС – ультраэффективная жидкостная хроматография с tandemным квадрупольным масс-спектрометрическим детектированием