

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



Чевидаев Владимир Викторович

Совершенствование подходов к стандартизации грудного сбора №2

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

кандидат фармацевтических наук, доцент

Боков Дмитрий Олегович

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Грудной сбор №2 и настой на его основе.....	16
1.2. Биологически активные соединения грудного сбора №2 и его компонентов .	17
1.2.1. Полисахаридный состав грудного сбора №2 и его компонентов	18
1.2.2. Флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, сапонины грудного сбора №2 и его компонентов	26
1.2.3. Аминокислотный состав компонентов грудного сбора №2	28
1.2.4. Летучие соединения компонентов грудного сбора №2	28
1.2.5. Жирнокислотный состав компонентов грудного сбора №2	30
1.2.6. Элементный состав компонентов грудного сбора №2	30
1.3. Фармакологические эффекты компонентов грудного сбора №2	31
1.4. Номенклатура лекарственных препаратов на основе компонентов грудного сбора №2.....	33
1.5. Стандартизация грудного сбора №2	34
1.6. Выводы к главе 1	41
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	44
2.1. Объекты исследования	44
2.2. Методы исследования и используемое оборудование	44
2.3. Количественный анализ полисахаридов.....	48
2.4. Количественный анализ суммы полисахаридов и свободных сахаров	48
2.5. Анализ состава гидроксикоричных кислот, флавоноидов и сапонинов	48
2.6. Количественный анализ глицирризиновой кислоты	50
2.7. Количественный анализ флавоноидов	50
2.8. Количественный анализ дубильных веществ.....	51
2.9. Анализ аминокислотного состава.....	51
2.10. Анализ жирнокислотного состава	51
2.11. Определение летучих соединений.....	52

2.12. Определение элементного состава	53
2.13. Стандартные образцы и реактивы	53
2.14. Валидация аналитических методик и статистическая обработка данных	54
2.15. Определение антиоксидантной активности	54
ГЛАВА 3. ВНЕШНИЕ И МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ГРУДНОГО СБОРА №2 И ЕГО КОМПОНЕНТОВ	55
3.1. Изучение внешних признаков грудного сбора №2 и его компонентов.....	55
3.2. Микроскопические признаки грудного сбора №2 измельчённого	59
3.3. Выводы к главе 3	65
ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГРУДНОГО СБОРА №2	67
4.1. Качественная оценка соединений грудного сбора №2.....	67
4.2. Идентификация сахаров методом тонкослойной хроматографии	68
4.3. Определение содержания полисахаридов методом гравиметрии в грудном сборе №2 и настое	70
4.4. Определение суммы полисахаридов и свободных сахаров в пересчёте на глюкозу в грудном сборе №2 и настое.....	73
4.5. Изучение сапонинов, флавоноидов и гидроксикоричных кислот грудного сбора №2.....	76
4.6. Определение содержания глицирризиновой кислоты.....	96
4.7. Количественный анализ суммы флавоноидов в грудном сборе №2 и его компонентах.....	98
4.8. Количественный анализ дубильных веществ в грудном сборе №2 и его компонентах.....	101
4.9. Определение аминокислотного состава в грудном сборе №2 и его настое...	103
4.10. Определение жирнокислотного состава	105
4.11. Определение компонентного состава летучей фракции	107
4.12. Исследование элементного состава.....	110
4.13. Выводы к главе 4	118
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ.....	120

5.1. Пробоподготовка образцов для анализа	122
5.2. Валидационная оценка методик количественного определения	126
5.2.1. Реагенты и стандартные образцы	126
5.2.2. Расчёт содержания основных биологически активных соединений	127
5.2.3. Приготовление растворов стандартных образцов	127
5.2.4. Оценка метрологической пригодности методик.....	128
5.2.5. Оценка линейности методик	129
5.2.6. Оценка повторяемости методик	131
5.2.7. Оценка внутрилабораторной прецизионности методик	132
5.2.8. Оценка правильности методик	133
5.3. Выводы к главе 5.....	135
ГЛАВА 6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ГРУДНОГО СБОРА №2	137
6.1. Влажность	137
6.2. Зола общая и зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	138
6.3. Измельчённость и посторонние примеси	139
6.4. Анализ содержания основных групп биологически активных соединений в грудном сборе №2	141
6.5. Исследование стабильности грудного сбора №2.....	145
6.6. Выводы к главе 6	146
ГЛАВА 7. АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ НАСТОЕВ ГРУДНОГО СБОРА №2	148
7.1. Определение антиоксидантной активности	148
7.2. Выводы к главе 7	151
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	152
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	154
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	157
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	158
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	159
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	161

ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	178
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	183
ПРИЛОЖЕНИЕ В.....	195
ПРИЛОЖЕНИЕ Г.....	207
ПРИЛОЖЕНИЕ Д.....	208
ПРИЛОЖЕНИЕ Е.....	209

ВВЕДЕНИЕ

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 [1]. В Российской Федерации заболевания верхних и нижних дыхательных путей составляют треть всех амбулаторных обращений к врачам общей практики [2]. 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 [3].

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) [4]. Одним из зарегистрированных многокомпонентных ЛРП, использующимся в составе комплексной терапии респираторных заболеваний в качестве отхаркивающего средства растительного происхождения, является грудной сбор №2 (ГС №2), (Фитопектол №2, *Pectorales species* №2) [5].

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 ФС 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 фармакопейных 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 объем 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Целью обзорной части настоящей диссертационной работы явилось обобщение данных нормативной и научной литературы, касающихся грудного сбора №2 – многокомпонентной растительной композиции и ее лекарственных форм. Сведения о компонентном составе сбора и формах его реализации сопровождаются информацией о химическом составе, с акцентом на изучении полисахаридов, как основной группы БАС, и фармакологических эффектах сбора и входящего в него ЛРС. С целью иллюстрации практической востребованности компонентов ГС №2 проанализирована номенклатура лекарственных препаратов, зарегистрированных на отечественном фармацевтическом рынке, в состав которых входят виды ЛРС, входящие в данный сбор. В заключительной части главы 1, опираясь на отечественные и зарубежные нормативные документы, рассматриваются существующие подходы к стандартизации основных групп БАС. Приводятся их недостатки и ограничения, предлагаются альтернативные, более эффективные методы контроля качества сбора.

1.1. Грудной сбор №2 и настой на его основе

Грудной сбор №2 (ГС №2) – это многокомпонентный лекарственный растительный препарат (ЛРП), рецептура которого выстроена на фармакопейном лекарственном растительном сырье (ЛРС), которое вобрало в себя компоненты из разных морфологических групп. Количественное соотношение компонентов выглядит следующим образом: мать-и-мачехи обыкновенной листья (*folia Tussilaginis farfarae*) – 40 %, подорожника большого листья (*folia Plantaginis majoris*) – 30 %, солодки корни (*radices Glycyrrhizae*) – 30 %.

Препарат реализуется на российском фармацевтическом рынке в измельчённом виде или в виде сбора-порошка. Размер частиц сырья для измельчённого сбора составляет 7 мм, для сбора-порошка – 2 мм. Для

упаковывания измельчённого сырья применяют внутренний пакет. В качестве материала используется бумага, имеющая термосвариваемый слой из полипропилена или полиэтилена. В случае с порошковой формой сбора первичной упаковкой служат фильтр-пакеты, изготовленные из термосвариваемой бумаги, массой по 2,0 г. Количество фильтр-пакетов во вторичной упаковке составляет 20 штук, в то время как масса измельчённого сбора в пачке равна 35 г. Вторичная упаковка представляет собой картонную пачку, габаритные размеры которой – 69×134×50 мм. Способ применения обеих форм подразумевает приготовление водного извлечения (настоя) в аптеке или в домашних условиях.

Процесс получения настоя регламентируется ОФС.1.4.1.0018 «Настои и отвары» ГФ РФ XV изд. [6], а также инструкцией по медицинскому применению [5]. Технология включает несколько последовательных стадий. На первом этапе подготовленное сырьё заливают кипячёной водой в ёмкости из эмали (для исключения контакта с металлом). Далее нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 минут и охлаждают в течение 45 минут до достижения комнатной температуры, после чего жидкую фазу отделяют от сырья путём процеживания. Полученный таким образом настой представляет собой суммарное водное извлечение действующих компонентов сбора.

БАС компонентов сбора, переходящие в настой, обуславливают фармакологическое и терапевтическое действие ЛРП.

1.2. Биологически активные соединения грудного сбора №2 и его компонентов

На сегодняшний день в литературе отсутствуют данные о химическом составе ГС №2. Есть сведения об основных группах БАС и отдельных соединениях компонентов сбора.

1.2.1. Полисахаридный состав грудного сбора №2 и его компонентов

Моносахаридный состав полисахаридного комплекса листьев подорожника большого

Качественный состав свободных сахаров в фитомассе подорожника большого включает 9 индивидуальных соединений [7]. В наибольшем количестве присутствует глюкоза (Glc). Помимо этого, моносахаридная фракция представлена фруктозой (Fru), ксилозой (Xyl) и рамнозой (Rha) [8]. Олигосахариды, в свою очередь, идентифицированы как рафиноза (0,03 %) и стахиоза (0,45 %), наряду с которыми в сырье обнаруживаются галактуроновая кислота (GalA) и ее олигомеры.

В исследовании А.Г. Горина [9] представлены дополнительные данные о моносахаридном составе водорастворимых полисахаридов подорожника большого. После кислотного гидролиза полисахаридного комплекса автором идентифицировано девять моносахаридов. Шесть из них были охарактеризованы как галактуроновая кислота, галактоза (Gal), арабиноза (Ara), рамноза, ксилоза и следовые количества глюкозы. Структура трех оставшихся соединений осталась нерасшифрованной. Установлено следующее количественное соотношение идентифицированных компонентов: галактуроновая кислота : галактоза : арабиноза : рамноза – 16 : 3 : 2 : 1 [9].

Разделение полисахаридного комплекса на диаэтиламино-целлюлозе (ДЭАЭ-целлюлозе) показало, что в его состав входят пектовая кислота (80-82 %) с примесью галактана (4-5 %) и арабиногалактана (5-6 %). Выявлено, что пектовая кислота, полученная после ферментативного гидролиза, представляет собой продукт полимеризации α -D-галактуроновой кислоты, связанной 1,4-связями [10].

Исследователи Института Фармации (Норвегия), Научно-исследовательского центра восточной медицины Института Китасато (Япония) и Института исследования рака (Норвегия) установили, что нейтральные компоненты являются глюкоманнанами при содержании глюкозы 41,3-53,8 % и

маннозы 11,7-36,25 %. Одна из кислых фракций представляет собой арабиногалактановый комплекс и включает в себя преимущественно остатки арабинозы (12,35-23,85 %), галактозы (18,1-34,05 %), ксилозы (11,45-22,2 %), небольших количеств рамнозы (3,0 %). Вторая кислая полисахаридная фракция представлена пектином. Доминирующим моносахаридом в ней является галактуроновая кислота. Её содержание достигает порядка 72% [8]. Среди нейтральных моносахаридов идентифицированы рамноза (4,2 %), арабиноза (8,8 %) и галактоза (8 %). Разделение на кислую и нейтральную фракции проводили ионообменной хроматографией на ДЭАЭ-сефарозной колонке с хлорид-противоионом. Количественное определение осуществляли методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором (ГХ-ПИД). Полисахаридные образцы предварительно подвергали метанолизу с 4М HCl в безводном метаноле [11].

Установлено строение пектина листьев подорожника. Обнаружена высокая степень этерификации пектина (68%). Наблюдается О-ацилированность каждой пятой мономерной единицы галактуроновой кислоты, связанной 1,4-гликозидными связями. Выявлены по меньшей мере два разветвлённых арабиногалактановых участка. Химическое строение менее разветвлённого участка представлено звеньями арабинозы, связанными по C3 с галактуроновой кислоты основной цепи. Второй, более разветвлённый участок, связан по C4 атому рамнозы основной цепи и состоит преимущественно из галактозы и арабинозы с достаточно высокой встречаемостью связей 1→4 и 1→3,6 между ними. Установлено следующее соотношение моносахаридов в пектине: галактуроновая кислота : галактоза : арабиноза : рамноза 17:2:2:1. Молекулярная масса описываемого полисахаридного комплекса составляет около 47 кДа [12].

Установлено, что арабиногалактановый компонент полисахаридного комплекса листьев подорожника большого характеризуется следующими структурными особенностями. Основная цепь представлена 1,3-связанным галактаном, а боковые фрагменты образованы 1,6-связанным арабиногалактаном. Боковые цепи, в свою очередь, содержат 1→3-связанные остатки галактозы, что

обеспечивает формирование пространственной сетки совместно с 1→6-связанными фрагментами. Фуранозные формы арабинозы, как правило, прикрепляются к галактановому ядру через С3-положение в составе 1→6-связанных галактозных цепей [8,13]. Молекулярная масса изученного полисахарида составляет 77–80 кДа, а соотношение моносахаридов (галактоза : арабиноза : рамноза) определено как 8 : 6 : 1.

Исследователи Медицинского Университета в Пловдиве (Болгария) устанавливали корреляцию между структурой водорастворимых полисахаридов листьев подорожника большого и результатами ферментативного гидролиза с использованием различных типов гидролаз. Показано наличие галактозы, как основного продукта энзиматического гидролиза. Предположительно превалировали арабиногалактаны II типа, связанные β-1,3 или β-1,6-связями, а также 1,4-связанные пектиновые полисахариды. Листья собирали в мае в регионе Пловдива. Затем проводили экстракцию дистиллированной водой (1:25) на кипящей водяной бане с последующим осаждением водорастворимых полисахаридов 95 % спиртом. Гидролиз осуществляли ферментами гемицеллюлазой и манноазой. Определение моносахаридного состава 1 % раствора водорастворимых полисахаридов осуществляли методом обращённо-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с рефрактометрическим детектором (ВЭЖХ-РД) на кварцевой колонке. Подвижная фаза – вода [14].

Этими же исследователями установлено содержание моносахаридных остатков водорастворимых и кислотных фракций полисахаридов листьев подорожника большого. Водоэкстрагируемая фракция полисахаридов содержала 37,36 % арабинозы, 62,64 % галактуроновой кислоты и следовые количества рамнозы. В состав кислых полисахаридов входили 16,96 % рамнозы, 46,11 % галактозы, 36,93 % галактуроновой кислоты, 2,18% негидролизированных галактуроновой кислота/рамнозы. Листья собраны в вегетационный период во Фракийском флористическом регионе. Экстракцию полисахаридов из листьев проводили водой и разбавленной соляной кислотой. Гидролиз кислых и водорастворимых полисахаридов осуществлялся 2М трифторуксусной кислотой.

Определение моносахаридного состава проводили методом обращённо-фазовой ВЭЖХ-РД с использованием кварцевой колонки. Подвижная фаза – вода [15].

Данные по моносахаридному составу ПСК листьев подорожника обобщены в Таблице 1.

Таблица 1 – Содержание моносахаридов в полисахаридном комплексе подорожника большого листьев [8]

Моносахарид	Содержание, %
Арабиноза (Ara)	8,8-37,36
Глюкоза (Glc)	41,3-53,8
Манноза (Man)	11,7-36,25
Галактоза (Gal)	8-46,11
Рамноза (Rha)	3,3-16,96
Ксилоза (Xyl)	11,45-22,22
Галактуроновая кислота (GalUA)	36,93-71,7

Моносахаридный состав полисахаридного комплекса листьев мать-и-мачехи обыкновенной

Исследователями из Сельскохозяйственного Университета Норвегии установлен качественный и количественный состав моносахаридов в полисахаридных комплексах листьев мать-и-мачехи. Преобладающими компонентами являются галактуроновая кислота (2–67%), галактоза (11–25%), глюкоза (5–66%) и арабиноза (8–37%). В меньших количествах присутствует ксилоза (Xyl) – от 1 до 11%, а также рамноза (Rha), содержание которой еще ниже и варьирует в пределах 4–7%. Доля рибозы (Rib) и О-метилованных сахаров не превышает 2%.

Высокое содержание галактуроновой кислоты позволило предположить наличие пектиновых веществ, при гидролизе которых образовывалось большое количество свободного моносахарида. Использовались коммерческие образцы листьев мать-и-мачехи (Norsk Medisinaldepot, Осло). Экстракцию полисахаридов проводили горячей водой. Неочищенные полисахариды фракционировали

хроматографически на ДЭАЭ-целлюлозной колонке. Определение моносахаридного состава и содержания осуществлялось электрофоретически. Содержание уроновых кислот устанавливали карбазольным методом. Нейтральные сахара подвергались гидролизу $2\text{H H}_2\text{SO}_4$, а затем устанавливали содержание с помощью бумажной хроматографии с использованием анилин-фталата [16].

Методами ИК-спектроскопии с Фурье преобразованием, рамановской спектроскопии и электрофореза на ацетат-целлюлозной мембране определён мономерный состав водорастворимых полисахаридов высушенных клеточных стенок мать-и-мачехи. Наличие галактозы, ксилозы, глюкуроновой (GlcA) и галактуроновой кислот установлено электрофоретически. Спектроскопическими методами дополнительно показано наличие маннозы [17].

Исследователи Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) установили состав и содержание мономерных остатков полисахаридных комплексов листьев мать-и-мачехи. Были выделены фракции галактоарабинанов, рамнанов, рамногалактанов и др. Первая фракция содержала галактозу (46,41 %), арабинозу (38,08 %), рамнозу (11,90 %), маннозу (2,59 %), ксилозу (1,02 %), вторая – галактозу (29,58 %), арабинозу (24,86 %), рамнозу (19,98 %), маннозу (17,48 %), глюкозу (8,11 %), третья – галактозу (53,24 %), глюкозу (21,81 %), арабинозу (14,49 %), маннозу (6,14 %), рамнозу (4,33 %), четвёртая – рамнозу (44,16 %), галактозу (30,63 %), галактуроновую кислоту (25,20 %), пятая – рамнозу (100 %), шестая – галактозу (57,62 %), рамнозу (27,02 %), глюкозу (8,26 %), арабинозу (7,1 %). Образцы листьев были получены в результате заготовки в Томской области и Алтайском крае. Экстракцию проводили хлористоводородной кислотой концентрированной в воде очищенной, соотношение сырьё-экстрагент 1:20. Фракционирование проводили на ДЭАЭ-целлюлозной колонке. Содержание уроновых кислот определяли спектрофотометрически по реакции с карбазолом. Гидролиз полисахаридов осуществляли 2М трифторускусной кислотой. Полученные моносахариды подвергали дериватизации и анализировали с помощью метода газовой хроматографии с масс-селективным детектором с капиллярной полисилоксановой колонкой. Газ-носитель – гелий [18].

Результаты количественной оценки моносахаридного профиля полисахаридов, выделенных из сырья мать-и-мачехи, обобщены в Таблице 2.

Таблица 2 – Моносахаридный состав полисахаридного комплекса листьев мать-и-мачехи обыкновенной (*Tussilago farfara* L.)

Моносахарид	Содержание, %
Галактоза (Gal)	11-57,62
Глюкоза (Glc)	5-66
Арабиноза (Ara)	7,1-38,08
Галактуроновая кислота (GalUA)	2-67
Ксилоза (Xyl)	1-11
Рамноза (Rha)	4-100
Манноза (Man)	2,59-17,48
Рибоза (Rib)	1-2

Моносахаридный состав полисахаридного комплекса корней солодки

Данные о моносахаридном составе корней солодки представлены в литературе в недостаточном количестве, поскольку основные исследования посвящены изучению глицирризиновой кислоты и её производных, с которым связывают основное фармакологическое действие корней солодки голой.

Работа N. Wittschier и коллег из Института фармацевтической биологии и химии (Мюнхен) решала две задачи. Оценивали, насколько полисахариды корней солодки голой (образцы Caesar & Loretz, Хильден) способны подавлять адгезию *H. pylori*, и определяли моносахаридный состав полученных фракций. Сырье трижды экстрагировали водой при 8°C в течение 20 часов, затем фракционировали на ДЭАЭ-колонке в режиме градиентного элюирования деионизированной водой, фосфатным буфером и 0,05 Н NaOH. Завершающим этапом становился количественный анализ моносахаридов методом ионообменной ВЭЖХ с амперометрическим детектированием при градиентном режиме [8].

Преобладающим компонентом выступала глюкуроновая кислота (18,8 %). Заметные количества приходились на глюкозу (16,5 %), галактозу (14,9 %) и

арабинозу (11,5 %). Остальные идентифицированные сахара – манноза (6,9 %), галактурановая кислота (5,9 %), рамноза (3,2 %), рибоза (2,1 %), ксилоза (1,1 %) и фукоза (0,9 %) – обнаруживались лишь как минорные компоненты [18].

Таким образом, можно предположить наличие глюкуронанов, галактурананов, арабиногалактурананов в корнях солодки голой [8, 19].

Существуют данные о моносакхаридном составе полисахаридных фракций, полученных разделением на ДЭАЭ-колонке, корней солодки уральской. Определение процентного содержания каждого компонента фракций проводили ИК-спектроскопией с Фурье-преобразованием. Все фракции являлись гетерополисахаридами и содержали остатки глюкозы, галактозы, арабинозы, рамнозы. Исследователи Центрального Южного Университета (Чанша, Китай) обнаружили, что полученный в ходе эксперимента неочищенный полисахаридный комплекс содержал 6,98 % уроновых кислот, 26,14 % глюкозы, 22,4 % галактозы, 7,58 % арабинозы, 0,76 % рамнозы, 1,13 % маннозы. Фракция нейтральных полисахаридов содержала глюкозу (23,4 %), галактозу (25,18 %), арабинозу (8,32 %). Фракции кислых полисахаридов включали в себя уроновые кислоты (6,12-28,01 %), глюкозу (1,13-14 %), галактозу (22,04-25,67 %), арабинозу (17,54-31,44 %), рамнозу (0,61-3,36 %), маннозу (0,68-1,95 %). Все фракции являлись гетерополисахаридами и содержали остатки глюкозы, галактозы, арабинозы, рамнозы. Образцы солодки уральской получены из Янчи (провинция Нинся, Китай). Сырьё трёхкратно экстрагировали 95 % этанолом для удаления липидных компонентов, затем горячей водой (1:9) при 80 °C в течение одного часа. Количественное определение моносакхаридов полисахаридных комплексов корней солодки уральской проводили методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС) с использованием капиллярной колонки из плавленого кварца. Газом-носителем являлся гелий [21].

Данные по моносакхаридному составу полисахаридного комплекса корней солодки обобщены в Таблице 3.

Таблица 3 – Моносахаридный состав полисахаридного комплекса корней солодки

Моносахарид	Содержание, %
Арабиноза	7,58-31,44
Глюкоза	1,13-26,14
Галактоза	14,9-25,67
Глюкуроновая кислота	18,8
Галактуроновая кислота	5,9
Манноза	0,68-6,9
Рамноза	0,61-3,36
Рибоза	2,1
Ксилоза	1,1
Фукоза	0,9

Моносахаридный состав полисахаридного комплекса грудного сбора №2

Сведения о предполагаемом моносахаридном составе полисахаридных комплексов (ПСК), полученные в ходе обзорного исследования, можно резюмировать в Таблице 4.

Таблица 4 – Моносахаридный профиль ПСК компонентов сбора

Полисахариды	Моносахариды
<i>Солодки корни</i>	
Глюкуронаны, галктоуронаны, арабиногалактоуронаны, уроновые кислоты, протеогликаны [8]	Фукоза 0,9 %, рамноза 3,2 %, арабиноза 11,5 %, галактоза 14,9 %, глюкоза 16,2 %, манноза 6,9 %, рибоза 2,1 %, ксилоза 1,1 %, галактуроновая кислота 5,9 %, глюкуроновая кислота 18,8 %. ПСК-1 (с протеином): глюкоза (26,14 %), галактоза (22,4 %), арабиноза (7,58 %), рамноза (0,76 %), манноза (0,13 %). ПСК-2: глюкоза (23,4 %), галактоза (25,18 %), арабиноза (8,32 %) ПСК-3: глюкоза (14 %), галактоза (25,67 %), арабиноза (17,54 %), рамноза (0,61 %), манноза (0,68 %). ПСК-4: глюкоза (1,13 %), галактоза (22,04 %), арабиноза (31,44 %) рамноза (3,36 %), манноза (1,95 %).
<i>Мать-и-мачехи обыкновенной листья</i>	
Арабиногалактаны, рамногалактуронаны, рамнаны, галакторамнаны	ПСК 1: галактоза, арабиноза, рамноза (3,9:3,2:1) ПСК 2: галактоза, арабиноза, рамноза, манноза, глюкоза (3,6:3,1:2,5:2,2:1) ПСК 3: галактоза, глюкоза, арабиноза (3,7:1,5:1) ПСК 4: рамноза, галактоза, D-галактуроновая кислота (1,75:1,2:1,0) ПСК 5: рамноза ПСК 6: галактоза, рамноза (2:1)
<i>Подорожника большого листья</i>	

Продолжение Таблицы 4

Рамногалактуронан, галактаны, арабиногалактаны, ксилогалактуронаны, пектин	Арабиноза 8,8-37,36% Глюкоза 41,3-53,8% Манноза 11,7-36,25% Галактоза 8-46,11% Рамноза 3,3-16,96% Ксилоза 11,45-22,22% Галактуроновая кислота 36,93-71,7%
Примечание: ПСК – полисахаридный комплекс	

Характеристика моносахаридного состава ГС №2 представлена в Таблице 5. При расчётах принимался во внимание вклад каждого из компонентов, входящих в состав сбора, в общее содержание сахаров.

Таблица 5 – Оценка моносахаридного состава полисахаридов, входящих в ГС №2 (ориентировочные значения)

Моносахарид	Примерное содержание, %
Арабиноза	2,27-15,23
Глюкоза	0,34-26,40
Галактоза	2,4-23,0
Манноза	0,20-10,87
Рамноза	0,18-40
Ксилоза	0,33-6,66
Рибоза	0,4-0,8
Галактуроновая кислота	0,8-26,8
Глюкуроновая кислота	5,64
Фукоза	0,27

1.2.2. Флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, сапонины грудного сбора №2 и его компонентов

В Таблице 6 обобщены литературные данные о сапонинах, флавоноидах, гидроксикоричных кислотах (ГКК) и других фенольных соединениях, содержащихся в компонентах ГС № 2.

Таблица 6 – Характеристика фенольных соединений и сапонинов в составе сбора

Класс биологически активных соединений	Соединения
<i>Листья мать-и-мачехи обыкновенной</i>	
Флавоноиды	Кемпферол, астралагин, никотифлорин, гуаяверин, изокверцетин, рутин, гиперозид, кверцетин, лютеолин, апигенин, гесперидин [22-26]
Гидроксикоричные кислоты и их эфиры	4,5-дикофеилхинная кислота, хлорогеновая кислота, 3,5-дикофеилхинная кислота, феруловая кислота, кофейная кислота, галловая кислота, протокатеховая кислота, п-гидроксibenзойная кислота, сиреневая кислота, п-кумаровая кислота, розмариновая кислота, коричная кислота [22-25]
Другие фенольные соединения	Галловая кислота, протокатеховая кислота, п-бензойная кислота [22]
<i>Листья подорожника большого</i>	
Флавоноиды	Лютеолин, кверцетин, рутин, нарингенин, гиперозид, хризин, кемпферол, байкалеин, байкалин, изорамнетин, катехин [27-29]
Гидроксикоричные кислоты и их эфиры	Кофейная кислота, розмариновая кислота, п-кумаровая кислота, сиреневая кислота, феруловая кислота [27-28]
Другие фенольные соединения	Галловая кислота, катехол, ванилиновая кислота, эллаговая кислота, кумарин [27-28]
<i>Корни солодки</i>	
Флавоноиды	Ликвиритигенин, гиспоглабридин А, глабридин, 4-О-метилглабридин, изовиолантин, генистеин, неоликвирозид, лютеон, ураленол, пратензин, гомобутеин, гликорикон кемпферол, ликоизофлаванон, абиоханин А, ликфлаван А, ликоизофлаван В [30-34]
Другие фенольные соединения	5''-диметил-[2,1-b] фурано-куместан, 1,2-бензодиол, 3-метокси-транс-изоэвгенол, ликонолигнан, ликофуранон [30,31]
Сапонины	Глицирризиновая кислота, глицирретиновая кислота, ликвориссапонин А3, уралозид, глицирризин, ликвориссапонины G, B2, глицирризол, ураленозид, глицирризасапонин, глиурисапонин [35,36]

1.2.3. Аминокислотный состав компонентов грудного сбора №2

Исследователями из Университета Пищевых Технологий (Болгария) методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектором показано наличие 17 аминокислот в листьях мать-и-мачехи обыкновенной. В наибольшем количестве содержатся незаменимые аминокислоты фенилаланин (6,23 г/100 г белка) и валин (5,56 г/100 г белка). Выявлены другие незаменимые аминокислоты, такие как треонин (4,90 г/100 г белка), лейцин (4,64 г/100 г белка), изолейцин (3,76 г/100 г белка) и лизин (2,45 г/100 г белка) [37]. Российскими и белорусскими исследователями методом ВЭЖХ-УФ установлено содержание аргинина (26,19-31,87 мг/г), глутамина (3,83-10,45 мг/г), лизина (до 5,05 мг/г), тирозина (4,53-4,74 мг/г) в сериях ЛРП «Мать-и-мачехи обыкновенной листья», приобретённых в аптечной сети г. Москвы [38].

Методом ВЭЖХ с применением аминокислотного анализатора ААА 400 установлен аминокислотный состав корней солодки голой, произрастающей в Волгоградской области. Выявлено 16 аминокислот, 7 из которых являются незаменимыми. Преобладающими аминокислотами являются пролин (1,49%), аспарагиновая кислота (1,17%), глутаминовая кислота (0,62%) [39].

Мажорными аминокислотами листьев подорожника большого, произрастающего на территории горного района города Алма-Аты республики Казахстан, являются аргинин (8,29 мг/г сухой массы), лизин (6,27 мг/г сухой массы), треонин (4,10 мг/г сухой массы), фенилаланин (3,77 мг/г сухой массы) и изолейцин (3,34 мг/г сухой массы), гистидин (1,13 мг/г сухой массы), метионин (1,08 мг/г сухой массы) [40].

1.2.4. Летучие соединения компонентов грудного сбора №2

Иранские исследователи с помощью ГХ-ПВД обнаружили 4,4-диметилтетрациклодекан (до 21,9 %), 1-ундецен (до 21,9 %), 14-гидрокси-цис-

кариофиллен (до 21,1 %), гумуленэпоксид II (до 21,1 %), оксид кариофиллена (до 12,1 %), α -кадиол (до 11,1 %), неролидол (до 11,1 %), 2-фенилэтилантранилат (до 10,2 %), β -селенен (до 6,8%), спатуленол (до 5,4 %), α -копаен (до 4,3 %), (Е)-кариофиллен (до 4,1 %), гермакрен D (до 3,3 %), 1-тридецен (до 3,1 %), метиловый эфир тимол (до 2,3 %), α -гумулен (до 1,5 %) в листьях мать-и-мачехи обыкновенной [41].

В эфирном масле подорожника большого, произрастающего на территории Ирана, методом ГХ-МС было идентифицировано 79 компонентов, принадлежащих к следующим химическим группам: амины (35,74 %), алкены и алканы (24,88 %) с 2-додецен-1-ил(-)янтарным ангидридом (15,29 %) в качестве основного компонента; фенолы (10,49 %) с dl-фенилэфрином (7,51 %) в качестве основного компонента; сложные эфиры (6,96%) с саркозина N-валерил-бутиловым эфиром (2,02 %) в качестве основного компонента; спирты (5,14 %); кетоны (3,61 %); амиды (2,2 %); монотерпены с изоборнеолом (1,17 %). Основными соединениями эфирного масла подорожника являются додецен-1-ил(-)янтарный ангидрид, изоборнеол, метоксамин, бензенметанол [42].

В корнях солодки голой (Хильден, Германия) методом хроматографии-ольфактометрии в сочетании с ГХ-МС обнаружены следующие ароматические соединения (одоранты): гексановая кислота (63100 мкг/кг), гексаналь (4750 мкг/кг), анетол (2840 мкг/кг), бутановая кислота (1570 мкг/кг), γ -ноналактон (1110 мкг/кг), линалоол (1060 мкг/кг), пентановая кислота (580 мкг/кг), эстрагол (473 мкг/кг), (421 мкг/кг), фенилуксусная кислота (376 мкг/кг), эвгенол (320 мкг/кг), карвакрол (211 мкг/кг), 3-метилбутановая кислота (190 мкг/кг), 2-метилбутановая кислота В корнях солодки были обнаружены: 2-метилбутановая кислота (174 мкг/кг), 1,8-цинеол (96,9 мкг/кг), бензальдегид (91,2 мкг/кг), тимол (55,5 мкг/кг), деканаль (53,4 мкг/кг), 3-этилфенол (51,8 мкг/кг), 2,3-бутандион (44,9 мкг/кг), октаналь (37,2 мкг/кг), 2,4-нонадиеналь (35,5 мкг/кг), 2-метилбутаналь (33,9 мкг/кг), 2,6-нонадиеналь (30,7 мкг/кг) [43].

Gyawali R. и др. методом ГХ-МС идентифицировали 2-этокси-1-пропанол (23,38 мг/кг), 4-терпиниол (7,77 мг/кг), гексаналь (5,83 мг/кг), гексанол (4,9 мг/кг),

γ-ноналактон (2,56 мг/кг), пара-цимен-8-ол (2,45 мг/кг), солаветивон (1,97 мг/кг), индолу (1,85 мг/кг), тетраметилпиразин (1,78 мг/кг), миртенал (1,72 мг/кг), α-терпинеол (1,7 мг/кг), гексановую кислоту (1,53 мг/кг), пулегон (1,32 мг/кг), метиллинолеат (1,29 мг/кг) в летучей фракции корней солодки уральской (Кванджу, Республика Корея) [44].

1.2.5. Жирнокислотный состав компонентов грудного сбора №2

Жирные кислоты – н-гексадкановая (пальмитиновая) кислота (до 38,47 %), 9,12-октадекадиеновая (линолевая) (до 25,78 %), эйкозотриеновая кислота (2,4 %) – были обнаружены методом ГХ-МС в экстрактах листьев подорожника большого, произрастающего на территории Египта [45]. Имеются сведения о наличии арахидоновой и бегеновой кислот в листьях подорожника большого [46].

Уфимские химики из Института органической химии, применив газожидкостную хроматографию, идентифицировали в петролейно-эфирном экстракте корней солодки четырнадцать жирных кислот. В пуле резко преобладали ненасыщенные кислоты, на долю которых пришлось 70%, и в этой фракции доминировали линолевая с олеиновой. Насыщенные же кислоты сформировали около 30% состава, главным образом за счет пальмитиновой [47].

Листья мать-и-мачехи обыкновенной включают 67,32% непредельных жирных кислот, где в массиве выделяются линолевая, линоленовая, олеиновая и гондоиновая. Насыщенные кислоты, достигающие 31,23% фракции, приходятся на пальмитиновую и стеариновую [48].

1.2.6. Элементный состав компонентов грудного сбора №2

Работы [49, 50] фиксируют в листьях мать-и-мачехи обыкновенной целый спектр макро- и микроэлементов. Калий обнаруживается в диапазоне 3181–3319 мг/кг, магний – 2110–2210 мг/кг, а кальций – 1580–1901 мг/кг. Концентрация

алюминия составляет 636–909 мг/кг, натрия – 567–601 мг/кг. Железо варьируется от 144,10 до 305,40 мг/кг, стронций – от 54,00 до 165,00 мг/кг. Содержание марганца укладывается в пределы 9,00–97,51 мг/кг, цинка – 18,00–28,23 мг/кг, никеля – 1,00–48,00 мг/кг, меди – 1,00–14,57 мг/кг, хрома – 0,60 мг/кг, кобальта – 0,54 мг/кг.

В экстрактах подорожника большого листьев методом пламенной атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС) обнаружены калий (10360,00 мг/кг), натрий (4470,00 мг/кг), кальций (1350,00 мг/кг), магний (6340,00 мг/кг), железо (100,72–290,00 мг/кг), марганец (6340,00 мг/кг), цинк (27,37–70,00 мг/кг), медь (7,19 мг/кг), никель (0,03 мг/кг) [38, 51].

Минеральный состав корней солодки представлен калием (1470,00–11230,00 мг/кг), кальцием (1200,00–12570,00 мг/кг), магнием (200,00–4735,10 мг/кг), натрием (21,00–1804,80 мг/кг), железом (60,00–550,00 мг/кг), алюминием (132,00–1080,00 мг/кг) марганцем (12,50–44,00 мг/кг), цинком (10,28–29,00 мг/кг), медью (1,00–10,00 мг/кг), стронцием (152,00–250,00 мг/кг), кобальтом (0,06–0,22 мг/кг), хромом (1,20–3,00 мг/кг), никелем (1,78–3,00 мг/кг) [52–55].

1.3. Фармакологические эффекты компонентов грудного сбора №2

Согласно инструкции по медицинскому применению, настой, приготовленный из ГС №2, обладает противовоспалительной и отхаркивающей активностью. Данный лекарственный растительный препарат, относящийся к группе отхаркивающих препаратов, рекомендован к применению в комплексной терапии патологий дыхательной системы, которые сопровождаются кашлем с вязкой, трудноотделяемой мокротой [5]. Многокомпонентность и богатый химический состав ГС №2 могут обуславливать и другие потенциальные фармакологические эффекты.

Одно из производящих растений ЛРС сбора – мать-и-мачеха обыкновенная – известно своим противокашлевым эффектом ещё с древних времён. Её родовое

название *Tussilago* можно перевести дословно как «*tussis*» – кашель и «*ago*» – прогонять, т.е. «прогоняющая кашель». Это название отражает одно из основных применений мать-и-мачехи в официальной медицине – лечение заболеваний дыхательных путей, сопровождающихся кашлем (бронхит, астма, туберкулёз). Такой подход подтверждается также и научной литературой [56, 57]. Мать-и-мачехи обыкновенной листья относятся к отхаркивающим средствам растительного происхождения. Настой листьев мать-и-мачехи обыкновенной оказывает отхаркивающее, слабое противовоспалительное действие. Слизь (полисахариды) способствует разжижению вязкого отделяемого в верхних дыхательных путях, улучшению отхождения мокроты. Благодаря высокому содержанию слизи препараты мать-и-мачехи оказывают обволакивающее действие на слизистые оболочки полости рта и горла, предохраняя их от раздражения [5]. Спектр фармакологической активности лекарственных растений, рассматриваемых в данной работе, достаточно широк. Так, для мать-и-мачехи обыкновенной экспериментально подтверждены антимикробная [58-60], противовоспалительная [61], нейропротекторная и антиоксидантная [62-64], а также кардиостимулирующая активность [65].

Листья подорожника большого, как указано в инструкции по применению, классифицируются как отхаркивающее средство растительного происхождения [5]. Фармакологические эффекты настоя подорожника включают: усиление секреции бронхиальных желёз, разжижение мокроты (муколитическое действие), уменьшение воспаления. Кроме того, препарат оказывает стимулирующее влияние на желудочную секрецию, повышая кислотность желудочного сока [5].

В научной литературе приведены сведения о проявлении экстрактами подорожника большого следующих эффектов: противовоспалительного [66], иммуномодулирующего [67], гепатопротекторного [68, 69], антиульцерогенного [70, 71], антидиарейного [72], обезболивающего [73], кроветворного [74], ранозаживляющего [75]. Показана антиоксидантная и противоопухолевая активность подорожника большого [76].

Экстракт из корней солодки подавляет локальное воспаление и одновременно облегчает эвакуацию бронхиального секрета, что находит практическое применение при комбинированном лечении инфекционно-воспалительных патологий дыхательных путей, особенно в тех клинических случаях, когда кашель сопровождается выделением вязкой мокроты, с трудом отделяемой от слизистой оболочки [77], [78], болезней органов желудочно-кишечного тракта [5]. В научной литературе описано проявление следующих эффектов солодки корней: противоопухолевого [79, 80], антидиабетического [81-83], гиполипидемического [84], гепатопротекторного [85, 86], спазмолитического [87, 88], антимикробного [89-91], обезболивающего [92, 93], антиоксидантного [94, 95], иммуномодулирующего [96, 97], ноотропного [98, 99], седативного [100].

1.4. Номенклатура лекарственных препаратов на основе компонентов грудного сбора №2

Поскольку ЛРС, входящее в состав сбора, является фармакопейным и зарекомендовавшим себя с точки зрения эффективности и безопасности, лекарственные препараты на его основе активно реализуются на российском фармацевтическом рынке. Мать-и-мачехи обыкновенной листья, подорожника большого листья, солодки корни входят в состав ряда однокомпонентных и многокомпонентных ЛРП и однокомпонентных и многокомпонентных лекарственных средств растительного происхождения (ЛСРП). Последние включают в себя настойки, экстракты, эликсиры, соки, вещества растительного происхождения и их комбинации, продукты первичного и вторичного синтеза растений, в том числе, полученные из культуры растительных клеток, суммы биологически активных веществ растений [101]. Количество лекарственных препаратов растительного происхождения, зарегистрированных в России и содержащих те же компоненты, что и ГС №2, достигает 15. Полный перечень этих

средств с указанием их характеристик представлен в Таблице А.1 Приложения А, составленной на основании данных ГРЛС [5].

1.5. Стандартизация грудного сбора №2

В настоящее время проводятся исследования по стандартизации лекарственных растительных сборов, разрабатываются соответствующие фармакопейные статьи для ГФ РФ XV изд., а также совершенствуется нормативная документация (НД) предприятий-производителей. Подтверждение подлинности проводится в соответствии с разделами: «Внешние признаки», «Микроскопические признаки», «Определение основных групп биологически активных веществ». Доброкачественность устанавливается на основании проведённых испытаний по разделам «Влажность», «Зола общая», «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте», «Измельчённость сырья», «Посторонние примеси», показатели безопасности («Микробиологическая чистота», «Тяжёлые металлы», «Остаточные количества пестицидов», «Радионуклиды»), «Количественное определение». В настоящее время отсутствуют монографии на ГС №2 как в отечественной, так и в зарубежных фармакопеях.

Все компоненты, которые входят в ГС №2, являются фармакопейным ЛРС, подходы к стандартизации которого формировались в течение продолжительного времени и опираются на обоснованные с научной точки зрения данные. В Таблице 7 приведена краткая характеристика разделов ГФ XIV изд. для компонентов ГС №2 и их краткая характеристика.

Таблица 7 – Анализ содержания отдельных разделов фармакопейных статей (ГФ РФ XIV изд.) на компоненты, входящие в ГС №2

Раздел ФС	Объект		
	Листья мать-и-мачехи	Листья подорожника	Корни солодки
Качественные реакции	Полисахариды (ПСХ) – осаднение со спиртом	ПСХ – осаднение со спиртом	–

Продолжение Таблицы 7

	Галактуроновая кислота – с карбазолом	Галактуроновая кислота – с карбазолом	
Тонкослойная хроматография (ТСХ)	Флавоноиды (стандарт - рутин)	–	Флавоноиды + Сапонины (стандарты - 18β-глицирризиновая кислота, кверцетин)
Количественное определение	ПСХ – спектрофотометрия (СФМ)	ПСХ – гравиметрия (ГМ)	глицирризиновая кислота – СФМ
		Экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом 70 % – ГМ	

В зарубежные фармакопеи включены монографии на солодки корни. В Европейской Фармакопее 11 издания (ЕФ 11) приведено описание идентификации маркерных соединений (глицирризиновой кислоты, изоликвиритигенина) методом ТСХ с использованием СО глицирризиновой кислоты и тимола с двухэтапным детектированием (просматривание в УФ-свете при длине волны 254 нм и после опрыскивания раствором анисового альдегида) [102]. Оценку содержания 18β-глицирризиновой кислоты проводят с использованием ВЭЖХ-УФ (детектирование при $\lambda=254$ нм). В Фармакопею Китайской Народной Республики 2020 года (ФКНР 2020) включена монография на солодки корень и корневище производящих растений *Glycyrrhiza glabra* L., *Glycyrrhiza inflata* Bat. и *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. Для качественного анализа маркерных соединений (глицирризиновой кислоты) в ФКНР 2020 рекомендуется метод ТСХ с использованием СО моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты с детектированием в УФ-области при 365 нм после опрыскивания спиртовым раствором 10% серной кислоты; количественное определение ликвиритина и глицирризиновой кислоты осуществляется методом ВЭЖХ-УФ при длине волны 237 нм [103].

Следует отметить, что одним из основных требований является наличие валидированной методики определения содержания основной/основных групп БАС. В ГС №2 к таким группам относятся ПСХ и тритерпеновые соединения. То

есть должны быть приведена (-ны) методика/методики оценки конкретной (-ых) группы (групп) гидрофильных БАС, которые отвечают за фармакотерапевтический эффект водного извлечения – настоя.

В соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи XV издания [104-107], подтверждение подлинности многокомпонентного сбора (ГС №2) основывается на комплексном анализе внешних и анатомо-диагностических признаков входящего в него сырья. Диагностика каждого компонента проводится с учётом его морфологической принадлежности согласно соответствующим фармакопейным статьям: для листьев – ОФС.1.5.1.0003 [105], для корней и корневищ – ОФС.1.5.1.0006 [106]. Общие подходы к анализу сборов изложены в ОФС.1.4.1.0020 [104], а унифицированные методы микроскопического исследования – в ОФС.1.5.3.0003.15 [107].

В раздел «Определение основных групп биологически активных веществ» целесообразно включать подтверждение присутствия фенольных соединений (флавоноидов и гидроксикоричных кислот), тритерпеновых соединений (глицирризиновой кислоты) качественными реакциями и их идентификацию методом тонкослойной хроматографии. Для определения присутствия конкретных флавоноидов методом ТСХ необходимо использование стандартных образцов рутина, лютеолина, апигенина, кверцетина, ликвиретина, которые входят в состав компонентов ГС №2 и являются маркерными соединениями; для гидроксикоричных кислот – стандартные образцы хлорогеновой, розмариновой и кофейной кислот. В фитохимическом анализе профиль простых углеводов в составе ПСХ после кислотного гидролиза обычно определяют методом ТСХ. В качестве проявителя может быть использован анилин-фталатный реактив [108]. Стандартными образцами служат растворы СО глюкозы, галактозы, ксилозы, рамнозы, арабинозы или галактуроновой/глюкуроновой кислоты. ТСХ методика детектирования маркерных соединений из группы тритерпеновых сапонинов в корнях солодки приведена в ФС.2.5.0040.15 «Солодки корни» ГФ XIV [109].

Качественные реакции в разделе «Определение основных групп биологически активных веществ» могут подтверждать присутствие нескольких

групп БАС. Реакция осаждения 96 % спиртом и цветная реакция с карбазолом в условиях гидролитического расщепления серной кислотой концентрированной могут быть использованы в качестве подтверждающих наличие ПСХ-комплексов и галактуроновой кислоты. Пробоподготовка и методики проведения реакций приведены в ФС.2.5.0027.15 «Мать-и-мачехи обыкновенной листья» ГФ XIV изд. [110]. Для подтверждения наличия сапонинов может быть использована реакции «пенообразования», описанная в ФС.2.5.0039.15 «Синюхи голубой корневища с корнями» ГФ РФ XIV изд. [111]. Доказать присутствие в ГС №2 флавоноидов можно с помощью реакции комплексообразования с алюминия хлорида спиртовым раствором 2 % [112].

Содержание экстрактивных веществ (ЭВв) является важным показателем, позволяющим провести оценку качества фармацевтических субстанций растительного происхождения (ФСРП), предназначенных для получения суммарных препаратов [113]. В разделе «Испытания» ГС №2 следует приводить определение экстрактивных веществ, извлекаемых водой (ЭВв) (не менее 25 %), согласно ОФС.1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [114]. Этот показатель регламентирует содержание всех групп веществ, как БАС, так и балластных и необходим, прежде всего, для контроля качества ФСРП, используемых для изготовления экстрактов и настоек. Разработка технологии получения экстракта на основе ГС №2 является актуальной задачей, поскольку данная ФСРП является перспективной для получения современных лекарственных форм (однодозовый пакет-саше, шипучие таблетки и гранулы).

При выборе метода количественного определения БАС следует принимать во внимание принцип сквозной стандартизации. Как уже было отмечено ранее, ГС №2 является перспективной «композицией» для получения экстракционных лекарственных форм. Таким образом, метод анализа (в т.ч. конкретные методики) для фармакопейного контроля качества в связке «ЛРС-ЛРП для получения настоя (и сам настой) – ЛРП, полученный на основе экстракта из ГС №2» должен быть одним и тем же, с незначительной модификацией пробоподготовки, связанной с

особенностью матрицы образца. Поскольку главными группами гидрофильных соединений, обуславливающих основной отхаркивающий эффект ГС №2, являются ПСХ и тритерпеновые соединения, то определение данных групп БАС является необходимым условием для надлежащего контроля качества ЛРП. Для количественного определения глицирризиновой кислоты целесообразным является применение фармакопейной спектрофотометрической (СФМ) методики, описанной ФС.2.5.0040.15 «Солодки корни» ГФ XIV с модификацией параметров (размер частиц, соотношение сырья и экстрагента и т.д.) под матрицу ГС №2 [109]. Перспективным с точки зрения высокой селективности является применение ВЭЖХ-УФ метода количественного определения глицирризиновой кислоты [115].

В качестве методов количественного определения ПСХ в ГС №2 и его настое могут быть рассмотрены гравиметрический (ГМ), СФМ, хроматографический, электрофоретический. ГМ метод количественного определения ПСХ предполагает концентрирование 96 % спиртом ПСХ с последующим фильтрованием и высушиванием фильтра с осадком до постоянной массы на воздухе при 100-105 °С. Несмотря на то, что ГМ метод количественного определения ПСХ применяется уже на протяжении многих десятилетий, актуальность его для стандартизации не уменьшается, и он находит применение в современных исследованиях [116, 117]. ГМ методика проведения количественного определения ПСХ описана в ФС.2.5.0032.15 «Подорожника большого листа» ГФ XIV [118]. К достоинствам данного метода можно отнести доступность, простоту и достаточно высокую точность. Важно отметить, что в этом методе определяются именно высокомолекулярные нерастворимые в спирте соединения – ПСХ. Недостатками ГМ определения являются длительность проведения анализа и трудоёмкость.

В основе СФМ метода количественного определения ПСХ лежит измерение оптической плотности окрашенных продуктов, получаемых при взаимодействии восстанавливающих моносахаров с пикриновой кислотой, антроном или моносахаров-пентоз с орцином. Методы определения представлены в ОФС.1.2.3.0019.15 «Определение сахаров спектрофотометрическим методом» [119]. Использование «орцинового метода» не является предпочтительным при

СФМ определении ПСХ в ГС №2, поскольку полисахаридные комплексы компонентов ГС №2 представлены преимущественно гексозами. «Антроновый метод» СФМ анализа сахаров является более чувствительным (интенсивность окраски продуктов оценивается в области концентраций 0,02-0,10 мг/мл), в отличие от «пикринового метода» (интенсивность окраски продуктов оценивается в области концентраций 0,1-0,8 мг/мл) [119]. В ФС 2.5.0027.15 «Мать-и-мачехи обыкновенной листья» на один из компонентов сбора приведено количественное определение методом СФМ свободных восстанавливающих сахаров и продуктов гидролитического расщепления полисахаридов с пикриновой кислотой [110]. В качестве стандартных образцов могут быть предложены растворы восстанавливающих сахаров: глюкозы, галактозы, арабинозы, рамнозы. К достоинствам СФМ метода можно отнести высокую чувствительность, высокую селективность и быстроту проведения.

Возможны к рассмотрению варианты, включающие элементы двух методов: выделение суммы ПСХ, описанное в гравиметрических методиках (осаждение спиртами высоких концентраций) с последующим гидролизом и оценкой содержания восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов.

К хроматографическим методам, прежде всего, следует отнести высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) с различными детекторами: рефрактометрическим (РД), амперометрическим и др. [120]. Перспективным в фармакопейном анализе для определения ПСХ после гидролиза можно считать ВЭЖХ-РД. К достоинствам метода можно отнести высокую специфичность и селективность, быстроту, высокую чувствительность, возможность многократного использования колонок. К недостаткам метода можно отнести использование дорогого и сложного оборудования.

Является перспективным с точки зрения экспрессности использование метода капиллярного электрофореза (КЭ) в анализе свободных простых сахаров [121].

Особое внимание при выборе следует уделить показателям селективности методик. Так ГМ обладает высокой селективностью по отношению к ПСХ, им

определяется исключительно эта группа БАС (сумма ПСХ). Использование только СФМ-методик в текущем варианте, изложенном в ФС, позволяет определять сумму свободных сахаров и ПСХ. Свободные сахара вносят вклад в этот показатель, хотя не являются БАС. С помощью метода КЭ оценивается содержание только свободных сахаров [121]. Использование «гибридной» методики, включающей элементы пробоподготовки ГМ метода и количественного определения методом СФМ, позволяет избавиться от влияния этих сопутствующих соединений на итоговый показатель [122]. Однако даже этот способ не позволяет отделить крахмал, который содержится в небольшом количестве в корнях солодки и является сопутствующим соединением (т.е. не обладает фармакологической активностью ПСХ-комплекса ГС №2). Тем не менее, этот вариант следует считать наиболее приемлемым для фармакопейного анализа ПСХ. Сравнение методов представлено в Таблице 8.

Таблица 8 – Способы количественного анализа ПСХ в ГС №2

Характеристика	Метод				КЭ
	ГМ	СФМ	ГМ+СФМ	ВЭЖХ	
Содержание, не менее	Полисахариды	сумма полисахаридов и свободных восстанавливающих сахаров в пересчёте на глюкозу	сумма полисахаридов в пересчёте на глюкозу (сумма восстанавливающих сахаров после гидролиза полисахаридов в пересчёте на глюкозу)	содержание и профиль свободных углеводов до гидролиза, содержание и профиль углеводов после гидролиза	сумма свободных сахаров
селективность	относительно высокая	Низкая	Высокая	Высокая	Высокая
трудоёмкость выполнения	Высокая	Низкая	Низкая	Средняя	Средняя
стоимость оборудования	очень низкая	Низкая	Низкая	Высокая	Средняя
Примечание: ГМ – гравиметрия; СФМ – спектрофотометрия; ГМ+СФМ – «гибридная» методика, включающая в себя элементы пробоподготовки гравиметрического метода и количественное определение методом спектрофотометрии; КЭ – капиллярный электрофорез; ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография					

Исходя из вышесказанного, в современных условиях фармакопейного анализа для российских лабораторий в НД обязательно должна быть приведена методика оценки содержания полисахаридов («не менее») или восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов («не менее»), а не свободных восстанавливающих сахаров, не обладающих фармакологической активностью. Методика должна обладать всеми преимуществами современных методик, не требуя при этом использования дорогостоящего оборудования. Таким критериям соответствует «гибридная» методика, включающая элементы пробоподготовки ГМ и количественное определение СФМ. Также стоит рассматривать к включению в НД методику, подразумевающую использование высокоэффективных физико-химических методов анализа. Например, целесообразной является разработка ВЭЖХ-методики для испытательных лабораторий, чья приборная база позволяет выполнять такой анализ. При применении ВЭЖХ-методики отпадает необходимость проведения ТСХ-анализа.

1.6. Выводы к главе 1

1. ГС № 2 является многокомпонентным ЛРП, зарегистрированным на территории РФ, включающий в свой состав фармакопейные виды ЛРС. Лекарственной формой ГС №2 является настой, в который переходят все основные группы БАС, обуславливающие фармакологические эффекты (отхаркивающий за счёт ПСХ и сапонинов, противовоспалительный за счёт флавоноидов). Однако на сегодняшний день отсутствует действующая ФС на ГС №2, равно как и нет исследований перехода БАС в настой сбора.

2. В ходе информационно-аналитического обзора установлено, что химический состав грудного сбора №2 в литературе не описан. Имеющиеся публикации содержат лишь информацию о компонентах, входящих в его состав, рассматриваемых по отдельности. Основными группами БАС компонентов сбора являются ПСХ, сапонины, флавоноиды, ГKK. На основании литературных данных

установлен ориентировочный моносахаридный состав ПСХ ГС №2 (мажорные сахара – глюкоза, галактоза, галактуроновая кислота, рамноза). Химический состав ингредиентов, образующих ГС №2, изучался по нескольким направлениям. В частности, исследован состав элементов: выявлены макроэлементы (K, Ca, Na), микроэлементы (Al, Fe, Sr) и ультрамикроэлементы (Co, Cr, Ni). Установлен жирнокислотный состав с доминированием пальмитиновой, линолевой и олеиновой кислот. В летучей фракции идентифицированы гексаналь и 4,4-диметилтетрациклодекан. Аминокислотный профиль характеризуется наличием пролина, аргинина и фенилаланина в качестве мажорных компонентов.

3. Приведена информация о фармакологических эффектах, помимо отхаркивающего, компонентов сбора – антимикробном, противоопухолевом, антиоксидантом и т.д.

4. Выявлено, что компоненты сбора высоко востребованы на российском фармацевтическом рынке, и номенклатура лекарственных препаратов на их основе представлена 15 наименованиями.

5. При анализе литературы и существующей НД, регламентирующей качество компонентов сбора, а также соответствующих ОФС, был предложен комплекс методов для совершенствования подходов к стандартизации. Основными группами БАС, обуславливающими фармакологические эффекты сбора, являются полисахариды и флавоноиды, а также глицирризиновая кислота. Поэтому представляется целесообразным проводить стандартизацию именно по ним. Подлинность ГС №2 подтверждается макроскопическим и микроскопическим исследованием компонентов сбора, а также выявлением групп биологически активных соединений с помощью хроматографических методов и специфических химических проб. В раздел «Количественное определение» может быть включено определение содержания полисахаридов (гибридный метод ГМ + СФМ), глицирризиновой кислоты (метод СФМ или ВЭЖХ-УФ) и экстрактивных веществ, извлекаемых водой (метод описан в соответствующей ОФС).

6. Приведённые подходы позволят адекватно оценить переход основных групп БАС в настой сбора, принимая во внимание принцип «сквозной стандартизации» и применимость метода для разных матриц в связке ЛРП-настой.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Исследования проводили на 20 сериях грудного сбора №2, включая его компоненты, соответствующие требованиям действующих фармакопейных статей ГФ РФ XIV изд. [109, 110, 118]. Сбор был представлен в двух формах выпуска: измельчённое сырьё и сбор-порошок (предприятия АО «Красногорсклексредства» и ООО «Фирма Здоровье»). Образцы закуплены в аптечных учреждениях г. Москвы и области в 2019–2024 гг. В работе также использовали водные извлечения, полученные из указанных сборов и их компонентов.

Приготовление настоев (отвара для измельчённого ЛРС солодки корней) из ГС №2 и входящего в его состав ЛРС осуществляли в лабораторных условиях согласно инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата (далее – водное извлечение 1) и ОФС.1.4.1.0018 (далее – водное извлечение 2) [5, 6].

2.2. Методы исследования и используемое оборудование

Оценку внешних (морфологических) признаков измельчённого сырья и сбора-порошка проводили, руководствуясь общими фармакопейными требованиями, предъявляемыми к данной группе лекарственных форм [104]. Компоненты в составе ГС №2 анализировали невооружённым глазом и на бинокуляре (8×), отделяя в пробе кусочки составляющих сбора с помощью пинцета согласно нормативной документации [104]. При анализе учитывали диагностические характеристики, свойственные листовым частям растений [105] и подземным органам (корням) [106], входящим в состав сбора.

Анатомическое строение компонентов сбора изучали в соответствии с фармакопейной методикой микроскопического и микрохимического исследования

растительного сырья [107], а также с учётом современных подходов к микроскопической диагностике [123].

Визуализацию микропрепаратов осуществляли на микроскопе Leica DM1000 LED. Рабочий диапазон увеличений составлял от $\times 2,5$ до $\times 100$ (включая масляную иммерсию). Микроскоп был укомплектован окулярами ($10\times/20-25$ мм) и объективами классов план-ахромат и полуапохромат. Изображения документировали камерой Leica, обработку вели в ПО Leica Application Suite.

Водное извлечение из сбора, необходимое для проведения качественных реакций (фармакопейных и общепринятых нефармакопейных) на группы БАС и отдельные соединения, готовили по методике, описанной в соответствующей ОФС [108].

Для идентификации сахаров сбора методом ТСХ аналитическую пробу сырья измельчали до величины частиц, проходящих через сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 5,0 г (точная навеска) измельчённого сырья помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 100 мл воды и 10 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Затем колбу охлаждали до комнатной температуры под струёй холодной воды и процеживали через 5 слоёв марли в мерную колбу вместимостью 250 мл. Остатки сырья в колбе промывали 10 мл воды. Марлю с остатками сырья помещали в ту же колбу с сырьём и экстракцию повторяли ещё один раз указанным выше способом. Полученное извлечение процеживали через 5 слоёв марли в ту же мерную колбу, марлю промывали, доводили объём извлечения водой до метки и перемешивали (раствор А).

В коническую колбу вместимостью 50 мл помещали 10,0 мл раствора А, прибавляли по каплям натрия гидроксида раствор 40 % до получения раствора с рН 4,0-4,5. Раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объём раствора водой до метки и перемешивали. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр (раствор Б), отбрасывая первые 10-15 мл фильтрата.

Стандартами служили растворы стандартных образцов (СО) ряда сахаров, в перечень которых входили арабиноза, ксилоза, галактоза, глюкоза, рамноза и галактуроновая кислота. Концентрация каждого из этих соединений в стандартном растворе составляла 5 мг/мл [124].

На хроматографическую пластинку с неподвижной фазой силикагель 60 (алюминий/стекло, 20×20 см, без УФ-индикации, MERCK, Германия) наносили 20 мкл водного экстракта исследуемых образцов и 10 мкл стандартной смеси в виде полос 10×2 мм. Моносахариды разделяли хроматографически в системе бутанол–уксусная кислота–вода (4:1:5). После хроматографирования пластинку высушивали на воздухе до полного высыхания, затем опрыскивали анилинфталатным реактивом и прогревали при температуре 100–105 °С в течение 10 минут.

Подтверждение наличия соединений из групп флавоноидов и гидроксикоричных кислот проводили методом ТСХ с использованием в качестве неподвижной фазы пластинки размером 10 х 20 см. В качестве сорбента использовали силикагель с флуоресцентным индикатором F254 (Merck, Германия). Использовались следующие стандартные образцы: кверцетина, лютеолина, хлорогеновой, розмариновой, кофейной кислоты, рутина.

1,0 г ЛРС измельчали до частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 2 мм, помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл и приливали 10 мл водно-этанольной смеси. Нагревали смесь с обратным холодильником в течение 10 минут. Горячее извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через беззольный бумажный фильтр.

Элюировали системой органических растворителей, включавшей этилацетат, муравьиную кислоту и дистиллированную воду в объемном соотношении 40:4:6. Каждый стандартный образец растворяли в спирте этиловом 96 % до концентрации 0,5 мг/мл. Особенности детектирования зон адсорбции отражены в Приложениях Б и В.

Определение содержания ЭВв выполняли согласно фармакопейным нормам. Анализ образцов ГС №2, листьев мать-и-мачехи и корней солодки осуществляли

по общей фармакопейной статье ОФС.1.5.3.0006 (методика 1) [114]. Для листьев подорожника большого руководствовались требованиями частной фармакопейной статьи [118].

Величину сухого остатка в водных извлечениях из исследуемых образцов определяли по методике, описанной в общей фармакопейной статье, регламентирующей приготовление водных извлечений [6].

Образцы ГС №2 и его компонентов подвергали анализу для определения показателя «влажность». Измерения проводили по методике, описанной в соответствующей фармакопейной статье [125].

Определение золы общей и золы, нерастворимой в 10% хлористоводородной кислоте, в ГС №2 и его компонентах выполняли согласно ОФС.1.2.2.2.0013 [126] и ОФС.1.5.3.0005 [127] соответственно.

Органическую и минеральную примеси, а также измельченность сбора определяли в соответствии с ОФС.1.5.3.0004 ГФ XV изд. «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [128].

Вспомогательное оборудование, использованное в работе, приведено в Таблице 9.

Таблица 9 – Перечень вспомогательного оборудования

Фирма-производитель	Оборудование	Модель и характеристика	Страна происхождения
Экохим	Центрифуга	ПЭ-6900, лабораторная, до 4000 об/мин	Россия
BINDER GmbH	Сушильный шкаф	FD 53, Avantgarde.Line, 60 л, принудительная конвекция	Германия
Stegler	Водяная баня	WB-6, с электронагревом	Китай
ООО «Листон»	Аквадистиллятор	Liston A 1110, электрический, с накопителем	Россия
A&D Co.LTD	Весы аналитические	GR-3000, 310 г/0,1 г, I класс	Япония
Mettler Toledo	Дозаторы	Rainin, одноканальные, переменный объем (20–5000 мкл)	США
ECON	Электроплитка	ECO-133HP	Япония
Mettler Toledo	pH-метр	SevenCompact S220	США
ЗАО «БМТ»	Вакуумный насос	HBM-0,33II XC, мембранный	Россия
ОДА Сервис	Ультразвуковая ванна	ODA-LQ40	Россия

2.3. Количественный анализ полисахаридов

Методом гравиметрии по методике, изложенной в частной фармакопейной статье на подорожника большого листа [118], выполняли количественное определение ПСХ в объектах исследования.

2.4. Количественный анализ суммы полисахаридов и свободных сахаров

Методом спектрофотометрии определяли содержание суммы полисахаридов и свободных сахаров в объектах исследования в соответствии с частной фармакопейной статьёй на мать-и-мачехи обыкновенной листа [110] на спектрофотометре ПЭ-5400 (ГК «Экрос», Россия).

2.5. Анализ состава гидроксикоричных кислот, флавоноидов и сапонинов

Для всестороннего анализа состава сапонинов, флавоноидов и ГКК в исследуемых образцах был задействован высокочувствительный хромато-масс-спектрометрический метод. Анализ выполняли с использованием системы ультраэффективной жидкостной хроматографии, сопряжённой с УФ-детектором на диодной матрице и тройным квадрупольным масс-спектрометром (УЭЖХ-УФ-МС/МС). Анализ проводили в режиме регистрации как УФ-спектров, так и характеристических фрагментных ионов для каждого из исследуемых классов соединений.

Пробоподготовка ЛРС. Навеску 1,5 г образца трижды экстрагировали 70% метанолом на кипящей водяной бане (1 час – 25 мл, затем дважды по 10 мл). Экстракты объединяли, упаривали, остаток растворяли в 10 мл 70% метанола. Затем 2 мл раствора центрифугировали (15000 об/мин, 5 мин) и надосадочную жидкость декантировали в хроматографическую вialу для последующего анализа.

Параметры детектирования. Анализ профиля основных БАС выполняли на жидкостном хроматографе Waters Acquity (США).

Условия УЭЖХ-УФ-МС/МС анализа:

Колонка	колонка Acquity UPLC BEH C18 2,1 мм x 150 мм, толщина плёнки неподвижной фазы 1,7 μm
t колонки, °C	35
V пробы, мкл	5
t детектора, °C	240
Подвижная фаза (ПФ)	ПФ А: вода – ацетонитрил (95:5) с добавлением муравьиной кислоты; ПФ В: ацетонитрил – муравьиная кислота (100:0,1) [124].
Детектор	УФ, МС
Скорость потока, мл/мин	0,25

Градиентное элюирование проводили путём смешивания ПФ А и ПФ В по заданной градиентной программе, приведённой в Таблице 10.

Таблица 10 – Параметры градиентного режима хроматографирования

Время, мин	Содержание фазы А, %	Содержание фазы В, %
0	95	5
30	50	50
32	0	100
33	95	5
36	95	5

Измерение поглощения элюата проводили на DAD-детекторе в спектральном окне 220–550 нм.

Исследование выполнено на масс-спектрометре TQD (Waters) с тройным квадрупольным анализатором. В качестве источника ионизации использовали электрораспылительный интерфейс. Детектирование осуществляли в режимах сканирования положительно (ESI+) и отрицательно (ESI-) заряженных ионов. Смена режимов проводилась последовательно. [129].

Параметры настройки прибора для каждого режима регистрации указаны в Таблице 11.

Таблица 11 – Значения параметров масс-спектрометрического детектора в режимах ESI+ и ESI–

Параметр	Значение параметра
Электрические параметры	
Напряжение на капилляре	+3 кВ (ESI+), –3 кВ (ESI–)
Напряжение на конусе	+50 В (ESI+), –30 В (ESI–)
Температурные параметры	
Температура капилляра	450 °С (ESI+), 350 °С (ESI–)
Температура источника	120 °С (для обоих режимов)
Газодинамические параметры	
Скорость потока осушающего газа	800 л/ч (ESI+), 500 л/ч (ESI–)
Скорость потока газа в конусе	50 л/ч (для обоих режимов)

Сканирование масс осуществляли в интервале 100-1500 ед. независимо от режима ионизации. Дополнительно флавоноиды идентифицировали методом ТСХ.

2.6. Количественный анализ глицирризиновой кислоты

Методом СФМ в соответствии с ФС.2.5.0040.15 ГФ РФ XIV изд., Т. 4, с. 6253 «Солодки корни» [109] определяли содержание ГК в объектах исследования. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

2.7. Количественный анализ флавоноидов

Для анализа содержания флавоноидов была выбрана спектрофотометрическая методика. Определяли содержание суммы флавоноидов. Пересчёт вели на рутин. Анализ проводили на спектрофотометре ПЭ-5400 (ГК «Экрос», Россия), руководствуясь методикой из статьи «Зверобоя трава» (ФС.2.5.0015.15) [130] XIV издания ГФ РФ (Т. 4, с. 6074).

2.8. Количественный анализ дубильных веществ

Содержание дубильных веществ устанавливали по первому методу ОФС.1.5.3.0008 [131].

2.9. Анализ аминокислотного состава

Методом ВЭЖХ выполняли идентификацию и количественное определение аминокислотного состава в исследуемых образцах. Параметры хроматографического разделения и условия пробоподготовки соответствовали методике, описанной в литературном источнике [132].

2.10. Анализ жирнокислотного состава

Жирнокислотный состав в сбере определяли методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием (ГХ-ПИД). Подробнее пробоподготовка образцов, условия дериватизации и хроматографического анализа описаны в работе [133].

Индивидуальные жирные кислоты оценивали количественно, применяя метод внутреннего стандарта – метилового эфира ундекановой кислоты (C11:0-МЭ) [124]. Контролировали, насколько полно прошла переэтерификация и насколько эффективно образовавшиеся метиловые эфиры перешли в органическую фазу: ориентиром служил стандарт тритридеканоеата глицерила (ТАГ C13:0). Концентрации метиловых производных пересчитывали на свободные кислоты с помощью соответствующих коэффициентов [134].

2.11. Определение летучих соединений

Анализ летучих соединений проводился методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ГХ/МС).

Пробоподготовка ЛРС. В виалу для парофазного анализа объемом 20 мл помещали навеску гомогенизированного образца массой 3 г, приливали 7 мл высокоочищенной воды и после 20-секундного перемешивания немедленно герметизировали [124]. Волокно для твердофазной микроэкстракции размещали в газовой фазе над образцом. Виалу выдерживали на плитке (разогретой до 110 °С) в течение 30 минут, после чего волокно извлекали и переносили в инжектор газового хроматографа для непосредственного анализа.

Для выделения и концентрирования летучих компонентов использовали твердофазную микроэкстракцию с волокном SUPELCO, покрытым сорбентом дивинилбензол/карбоксен/полидиметилсилоксан (толщина слоя 50/30 мкм, производства Merck, Германия). Перед началом работы волокно подвергали кондиционированию согласно инструкции производителя.

В анализе использовали газовый хроматограф Agilent 7890А с капиллярной колонкой и масс-детектор Agilent 5975С (Agilent Technologies, США).

Параметры хроматографического анализа:

Колонка	капиллярная Supelcowax 10 60м х 0,53 мм, толщина плёнки неподвижной фазы 1 мкм
Температура колонки, °С	35 °С (5 мин) → 4 °С/мин → 220 °С (40 мин)
Температура инжектора, °С	225
Температура источника ионизации, °С	230
Температура квадруполя, °С	150
Подвижная фаза	Гелий
Скорость потока газа, мл/мин	2,8

Более подробное описание условий методики и обработки результатов представлено в работе [134].

2.12. Определение элементного состава

Определение элементного состава проводили методом ИСП-МС. Подробнее условия описаны в работе [135]. Калибровку проводили в диапазоне 0,5-1,5 ПДК для каждого элемента. Для каждого образца готовили по три параллельных испытуемых раствора. Итоговые величины концентраций определяли как среднее арифметическое измеренных значений [136].

2.13. Стандартные образцы и реактивы

Использовались СО чистотой не менее 98 % фирмы Sigma-Aldrich (США) следующих соединений: глюкозы (CAS 59-23-4), галактозы (CAS 57-48-7), ксилозы (CAS 57-50-1), арабинозы (CAS 50-99-7), рамнозы (CAS 28697-53-2), галактуроновой кислоты (CAS 3458-28-4); хлорогеновой кислоты (CAS 327-97-9), кофейной кислоты (CAS 501-16-6), розмариновой кислоты (CAS 20283-92-5); лютеолина (CAS 491-70-3), рутина (CAS 153-18-4); 18 β -глицирризиновой кислоты (CAS 53956-04-0); триглицерида тридекановой кислоты (ТАГС11); метиловых эфиров жирных кислот (в составе смеси) FAME 37 Component mix в дихлорметане; метилового эфира ундекановой кислоты (C11-МЭ).

Для эксперимента использовали растворители и реактивы квалификации «х.ч.» и «ч.д.а», качество которых соответствовало установленным нормативным требованиям.

2.14. Валидация аналитических методик и статистическая обработка данных

Подтверждение пригодности (валидацию) предложенных аналитических методик проводили с учётом требований, изложенных в общей фармакопейной статье ОФС.1.1.0012 [137], а также опираясь на методические рекомендации, представленные в справочной литературе [138, 139].

Обработку полученных в ходе экспериментов данных выполняли методами математической статистики, регламентированными ОФС.1.1.0013 [139]. Вычисления осуществляли с использованием табличного процессора Microsoft Office Excel 2019.

2.15. Определение антиоксидантной активности

Антиоксидантную активность (АОА) водных извлечений изучали *in vitro* в реакции с ДФПГ-радикалом [140-142]. Для этого готовили раствор ДФПГ с концентрацией 49,25 мкг/мл. В отдельные пробирки отбирали по 2,5 мл раствора радикала и добавляли такой же объем разбавленного настоя. Реакционную смесь выдерживали в условиях, исключающих доступ света, в течение 30 мин. По окончании инкубации определяли оптическую плотность растворов на спектрофотометре ПЭ-5400 (ГК «Экрос», Россия). Измерение проводилось при $\lambda=520$ нм. Раствор сравнения – 96% спирт. Расчёт АОА настоев осуществляли по приведённому ниже уравнению:

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

где A_0 – величина светопоглощения контрольного раствора ДФПГ (без добавления образца); A – величина светопоглощения пробы после взаимодействия с ДФПГ.

ГЛАВА 3. ВНЕШНИЕ И МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ГРУДНОГО СБОРА №2 И ЕГО КОМПОНЕНТОВ

3.1. Изучение внешних признаков грудного сбора №2 и его компонентов

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 порошка. Для этого выполняли анализ внешних признаков ГС №2 и его компонентов. Исследование проводили визуально и под биноклем (восьмикратное увеличение).

Корни солодки в составе сбора визуально определяются по волокнистой структуре фрагментов. Цвет варьирует от коричневатого-жёлтого до жёлтого. Нередко на поверхности кусочков корней видны остатки пробки (феллемы) коричневого цвета.

Идентификация листьев мать-и-мачехи и подорожника большого в составе сбора осуществляется по комплексу внешних признаков, включающему окраску, характер поверхности и наличие опушения.

Окраска листьев мать-и-мачехи, входящих в состав сбора, может быть как зелёной, так и желтовато-зелёной. Нижняя сторона этих листовых пластинок имеет свои отличительные черты. Во-первых, её поверхность является мелкоямчатой. Во-вторых, она покрыта плотным беловатым опушением, напоминающим войлок. Черешки фиолетово-зелёные. Могут встречаться фрагменты черешков коричневатого-фиолетового цвета.

Для листьев подорожника большого характерна двуцветная окраска: адаксиальная (верхняя) поверхность имеет светло-зелёный оттенок, тогда как абаксиальная (нижняя) сторона окрашена в коричневатый-зелёный тон. Нижняя поверхность листовой пластинки отличается неровной текстурой и отсутствием опушения. Черешковая часть, как правило, светло-коричневая, нередко с лиловыми пятнами.

На Рисунке 1 представлены фотографии, иллюстрирующие макроскопические характеристики сбора.



Рисунок 1 – Внешние признаки сбора измельчённого при осмотре невооружённым глазом (А) и с помощью бинокля (увеличение 8×) (Б), где 1 – *radices Glycirrhizae*; 2 – *folia Tussilaginis farfarae*; 3 – *folia Plantaginis majoris*

При макроскопическом исследовании образцов листьев мать-и-мачехи обыкновенной установлен следующий комплекс внешних признаков. Листовые пластинки представлены фрагментами разнообразной конфигурации с характерным неравномерно-мелкозубчатым краем. Поверхность фрагментов складчато-морщинистая, с мелкими точечными углублениями. Одним из важных диагностических признаков для идентификации сырья является характер опушения. Адаксиальная (верхняя) сторона голая, абаксиальная (нижняя) – покрыта плотным войлочным слоем беловатого цвета. Окраска сырья неоднородна: основными цветовыми градациями выступают желтовато-зеленый, зеленовато-серый и беловато-серый, изредка встречаются фиолетовые участки. Коричневато-зеленая или фиолетово-зеленая пигментация характерна для черешковой части сырья. На Рисунке 2 представлены фотографии характерных макроскопических признаков измельчённого ЛРС *folia Tussilaginis farfarae*.



А



Б

Рисунок 2 – Внешние признаки измельчённого ЛРС *folia Tussilaginis farfarae*: А – общий вид, Б – стереомикроскопическое изображение (8×)

Листовые пластинки с неровной поверхностью, голые или редко опушены белёсыми торчащими волосками, светло-зелёного, зелёного, серовато-зелёного цвета; кусочки черешков желтовато-белого, светло-коричневого, коричневого цвета, зачастую с фиолетовым оттенком, на поперечном сечении которых могут быть видны черные дугообразные пятна (сосудисто-волокнистые пучки), свойственны ЛРС *folia Plantaginis majoris* (Рисунок 3).



А



Б

Рисунок 3 – Внешние признаки ЛРС *folia Plantaginis majoris* (измельчённое сырье): А – общий вид, Б – стереомикроскопическое изображение (8×)

Одним из характерных внешних признаков корней солодки является их волокнистая структура. Цвет корней варьирует от жёлтого до серовато-жёлтого и коричневатого-жёлтого. На отдельных фрагментах сырья сохраняются остатки пробкового слоя коричневого цвета (Рисунок 4).



А



Б

Рисунок 4 – Внешние признаки ЛРС *radices Glycyrrhizae* (измельчённое сырьё): А – общий вид, Б – стереомикроскопическое изображение (8×)

Сбор-порошок

При стереомикроскопическом исследовании порошкообразной формы грудного сбора №2 визуализируется гетерогенная смесь, представленная фрагментами различного происхождения. Среди них идентифицируются обрывки листовой части, черешковые фрагменты и частицы корневой части сырья. Цветовая гамма образца варьирует от светло-зеленых и желтоватых до коричневатых-зеленых оттенков, при этом отдельные включения имеют темно-фиолетовую окраску. Макроскопические характеристики сбора-порошка проиллюстрированы на Рисунке 5.



А



Б

Рисунок 5 – Морфологические признаки сбора-порошка: А – общий вид, Б – стереомикроскопическое изображение (увеличение 8×)

Описанный выше комплекс макроскопических признаков служит основой для первичной идентификации ЛРС в составе сбора. Однако для более глубокой и объективной оценки подлинности многокомпонентного сырья необходима микроскопическая диагностика его анатомических элементов, которая приведена ниже.

3.2. Микроскопические признаки грудного сбора №2 измельчённого

В препаратах, приготовленных с поверхности листовых фрагментов, обнаруживается комплекс анатомических особенностей. Стенки клеток эпидермы имеют четковидные утолщения, кутикула – складчатая, а на нижней стороне листа видны простые многоклеточные волоски бичевидной формы. Их основание состоит из трех–шести клеток, тогда как апикальная часть вытягивается в длинные шнуровидные нити; волоски часто спутаны между собой. В срезе изредка попадаются фрагменты нижней эпидермы характерного строения, утратившие волоски при измельчении сырья, и на этих фрагментах заметны округлые участки бывшего прикрепления. Верхняя сторона листа содержит розеточные структуры с

зонами прикрепления волосков, окруженными лучисто расходящимися клетками. Мезофилл включает аэренхиму – ее образуют однорядные цепочки клеток, оконтуривающие воздухоносную полость. Замыкающие клетки устьиц овальные, околоустьичных клеток три–пять (аномоцитный тип). Совокупность описанных микроскопических признаков указывает на присутствие листьев мать-и-мачехи в образце ГС №2 (Рисунки 6–8).

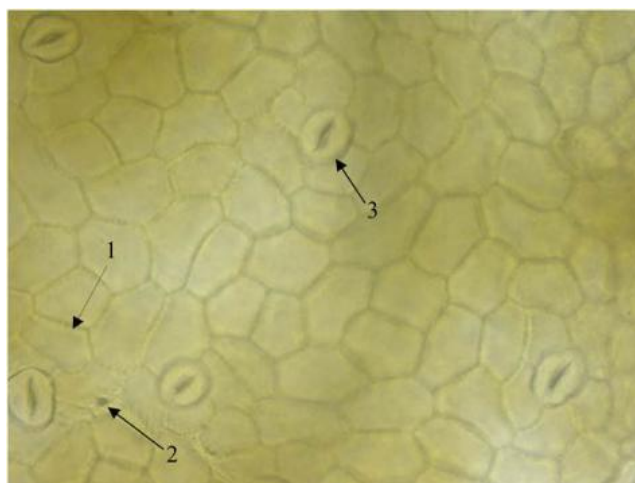


Рисунок 6 – Анатомо-диагностические признаки верхней стороны ЛРС *folia Tussilagin farfarae* (400×), где 1 – складчатость кутикулы, 2 – место прикрепления волоска, 3 – устьичный комплекс аномоцитного типа



Рисунок 7 – Анатомо-диагностические признаки нижней стороны ЛРС *folia Tussilagin farfarae* (400×), где 1 – складчатость кутикулы; 2 – устьичный комплекс аномоцитного типа; 3 – конечная шнуровидная клетка бичевидных волосков



Рисунок 8 – Воздухоносная паренхима ЛРС *folia Tussilaginis farfarae* (400×)

Компонент сбора подорожника большого листа идентифицируется по следующим анатомо-диагностическим признакам: складчатая кутикула покровной ткани, устьица на обеих сторонах листа окружены 3-4 клетками (устьичный комплекс аномоцитного типа), многоклеточные простые волоски конической формы, часто оборванные. Головчатые волоски на одноклеточной ножке с удлинённой двухклеточной головкой встречаются по всей поверхности с обеих сторон листа. Реже встречаются головчатые волоски на многоклеточной ножке с шарообразной или овальной одноклеточной головкой. Перечисленные признаки отражены на Рисунке 9.



Рисунок 9 – Анатомо-диагностические признаки нижней стороны листа ЛРС *folia Plantaginis majoris* (400×), где 1 – складчатость кутикулы; 2 – устьичный комплекс аномоцитного типа; 3 – головчатый волосок на одноклеточной ножке и двухклеточной головке

При микроскопическом изучении давленного препарата корней в составе ГС №2 наряду с паренхимными клетками, содержащими призматические кристаллы оксалата кальция, а также лубяными и древесинными волокнами с кристаллоносной обкладкой, были идентифицированы типичные для солодки структурные элементы: сосуды древесины сетчатого типа с окаймлённой поровостью, широкие сосуды, членики которых напоминают по форме бочонок, а также пробка, представленная слоями многогранных клеток. Перечисленные признаки обнаружены при микроскопическом изучении ГС №2, что свидетельствует о присутствии в сборе компонента солодки корней (Рисунки 10-12).

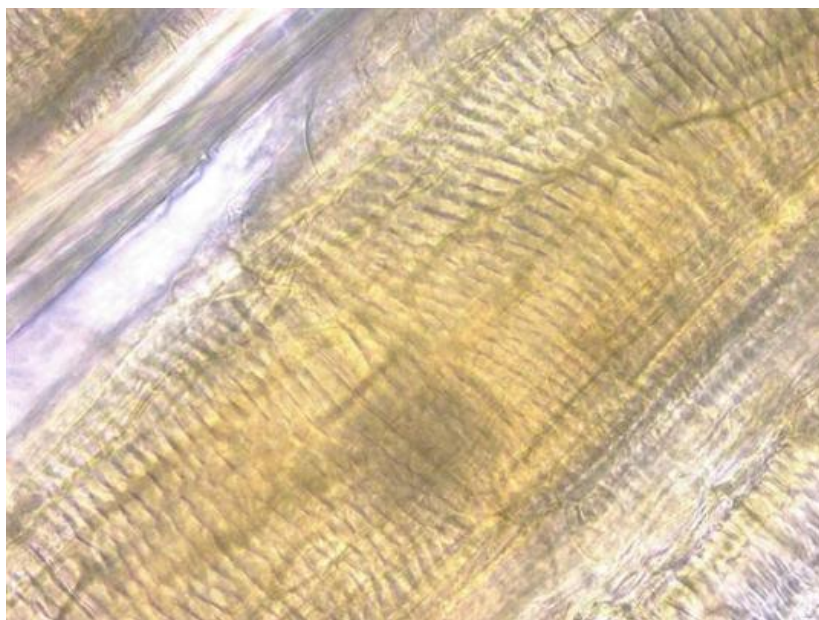


Рисунок 10 – Сетчатые сосуды ЛРС *radices Glycyrrhizae* (400×)

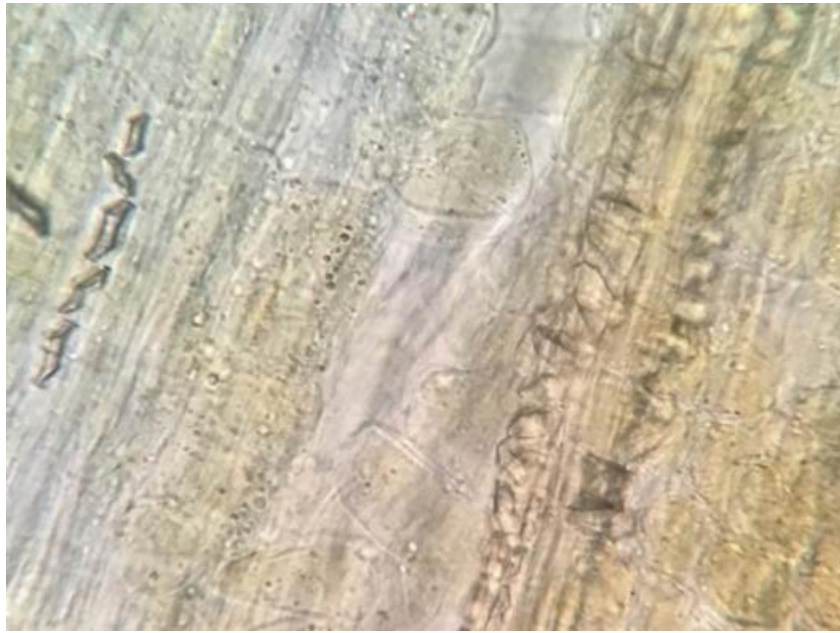


Рисунок 11 – Паренхима коры ЛРС *radices Glycyrrhizae* с призматическими кристаллами щавелевокислого кальция в клетках (400×)

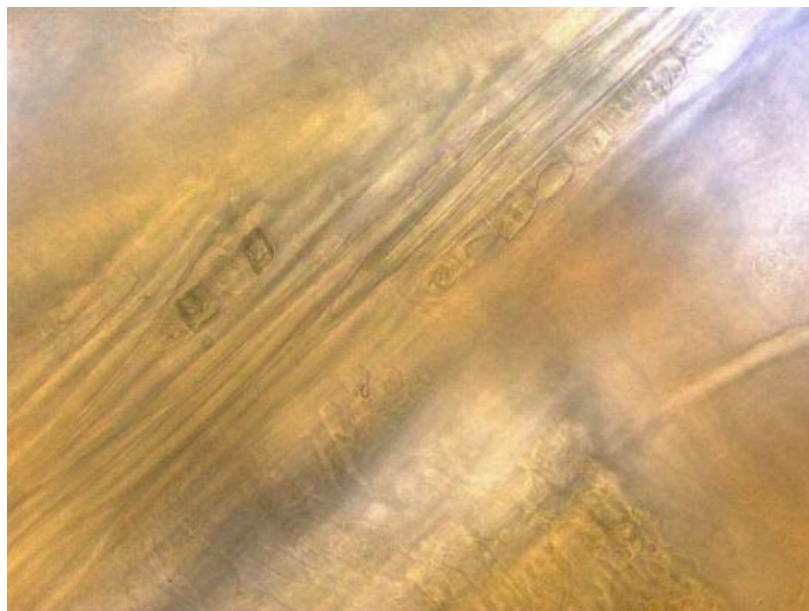


Рисунок 12 – Волокна с кристаллоносной обкладкой ЛРС *radices Glycyrrhizae* (400×)

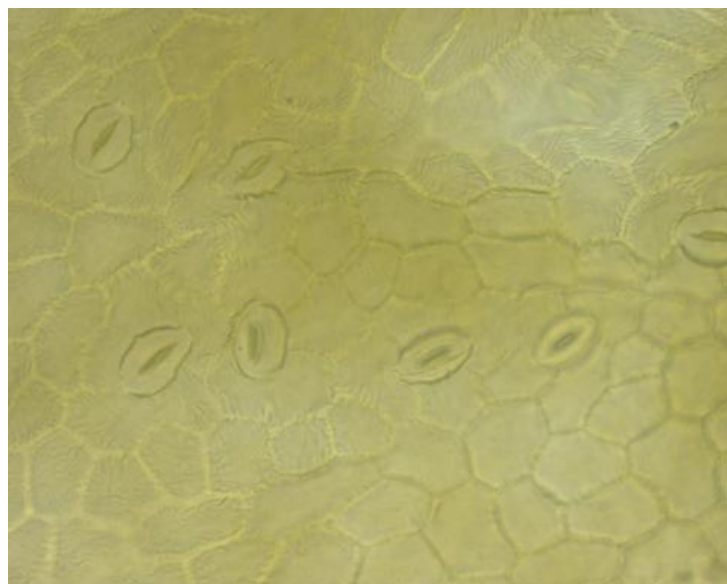
Сбор-порошок

Для микроскопического анализа мелкой фракции сбор-порошок до кипения нагревали с натрия гидроксида раствором 2,5%, промывали и микроскопировали.

Учитывая снижение выраженности ряда микроскопических признаков для мелкой фракции, на Рисунках 13-15 приведены фрагменты микропрепаратов, по которым можно идентифицировать компоненты сбора.



А

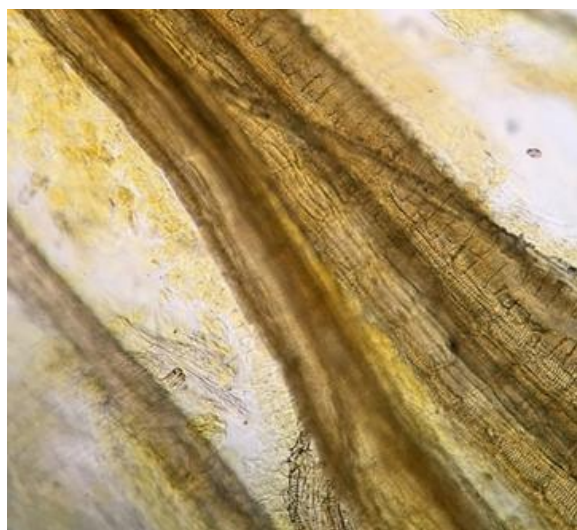


Б

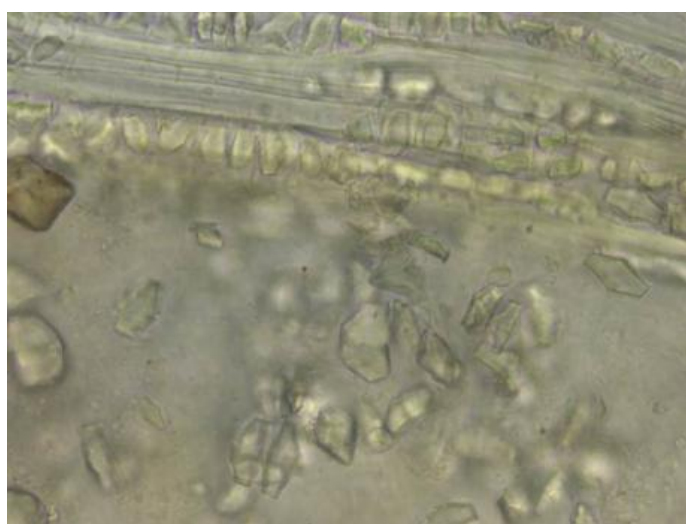
Рисунок 13 – Анатомо-диагностические признаки компонента *folia Tussilaginis farfarae* в порошковом ГС №2 при увеличении 100× (А) и 400× (Б)



Рисунок 14 – Анатомо-диагностические признаки компонента *folia Plantaginis majoris* в порошковом ГС №2(увеличение 400×)



А



Б

Рисунок 15 – Анатомо-диагностические признаки компонента *radices Glycyrrhizae* в порошковом ГС №2 при увеличении 100× (А) и 400× (Б)

Основными анатомо-диагностическими признаками при идентификации компонента мать-и-мачехи обыкновенной листьев в составе сбора-порошка являются устьичный комплекс аномоцитного типа; бичевидные многоклеточные волоски, терминальная клетка которых имеет шнуровидную форму; аэренхима, представленная однорядными цепочками клеток. Присутствие листьев подорожника большого устанавливается по следующему комплексу признаков: аномоцитный устьичный аппарат; головчатые волоски (одноклеточная ножка и двухклеточная головка); рубцы от прикрепления волосков. Диагностическими признаками для корней солодки являются сосуды ксилемы, чьи окаймленные поры напоминают щели, а членики – бочонки. В паренхиме коры рассеяны призматические кристаллы оксалата кальция, рядом с ними залегают волокна, одетые кристаллоносной обкладкой.

3.3. Выводы к главе 3

1. При осмотре измельченного ЛРС ГС №2 выяснилось, что образец состоит из неоднородной смеси, причем составляющие ее частицы имели зеленую,

коричневато-желтую и желтую окраску. При этом вкрапления почти не встречались.

2. Как невооружённым глазом, так и под стереомикроскопом обнаружилась смесь измельченных фрагментов: желтовато-зеленые частицы листьев мать-и-мачехи с характерной беловато-войлочной изнанкой в мелких ямках, фиолетово-зеленые черешки в сборе измельчённом. Среди них были различимы и коричневато-зеленые кусочки подорожника большого – их неровная поверхность вся пронизана темными жилками. Волокнистые обломки корней солодки коричневато-желтого оттенка. На части из них сохранились остатки феллемы (пробкового слоя).

3. Порошкообразная форма ГС №2 представляет собой гомогенизированную смесь тонкоизмельченных растительных частиц, окрашенных в светлые тона – от зеленоватых до желтоватых и коричневатых оттенков.

4. Анатомо-диагностический профиль сбора опирается на маркеры, специфические для каждого растительного компонента. Листья мать-и-мачехи диагностируют по бичевидным многоклеточным волоскам, чья конечная клетка вытянута длинным шнуром, и по аэренхиме из однорядных клеток, собранных в цепочки – аномоцитный тип устьичного комплекса эти структуры дополняют. Листья подорожника большого идентифицируют через иную совокупность признаков: тот же аномоцитный комплекс, но уже вкупе с головчатыми волосками на одноклеточной ножке, причем саму головку образуют две клетки. Корни солодки проявляют себя механическими волокнами в кристаллоносной обкладке, призматическими кристаллами оксалатов кальция в паренхиме коры и сосудах древесины, чьи бочковидные членики покрыты окаймленными щелевидными порами.

ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГРУДНОГО СБОРА №2

4.1. Качественная оценка соединений грудного сбора №2

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

Наличие ПСХ устанавливали добавлением избытка спирта 96 % к водному извлечению из ГС №2. Наблюдалось появление хлопьевидных сгустков, которые при стоянии раствора выпадали в осадок.

Осадок фильтровали и растворяли в 0,1 М натрия гидроксиде. К полученному раствору добавляли раствор карбазола в среде серной кислоты концентрированной. После нагревания на водяной бане наблюдалось появление красно-фиолетового окрашивания (галактуроновая кислота).

Свободные сахара выявляли в водном извлечении ГС №2. Когда к этому извлечению добавляли реактив Феллинга, выпадал оранжево-красный осадок, что, согласно пробе Бертрана на восстанавливающие сахара, однозначно свидетельствовало о присутствии свободных сахаров.

Проведение реакции пенообразования дало положительный результат, проявляющийся в формировании устойчивой пены при добавлении к водному извлечению воды с последующим встряхиванием (сапонины).

С целью подтверждения наличия гидролизуемых дубильных веществ к водному извлечению ГС №2 добавляли раствор железоаммониевых квасцов ($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$). Возникновение окрашивания, специфичного для этой группы, – черно-синего – свидетельствовало о положительном результате реакции [143].

Присутствие флавоноидов доказывали путём проведения реакции комплексообразования полученного водного извлечения с 1% раствором алюминия хлорида. Появлялось жёлто-зелёное окрашивание (флавоноиды).

После добавления к водному извлечению из ГС №2 1% раствора нингидрина и последующего нагревания наблюдалось сине-фиолетового окрашивание (аминокислоты).

4.2. Идентификация сахаров методом тонкослойной хроматографии

Результаты детектирования представлены на Рисунке 16.

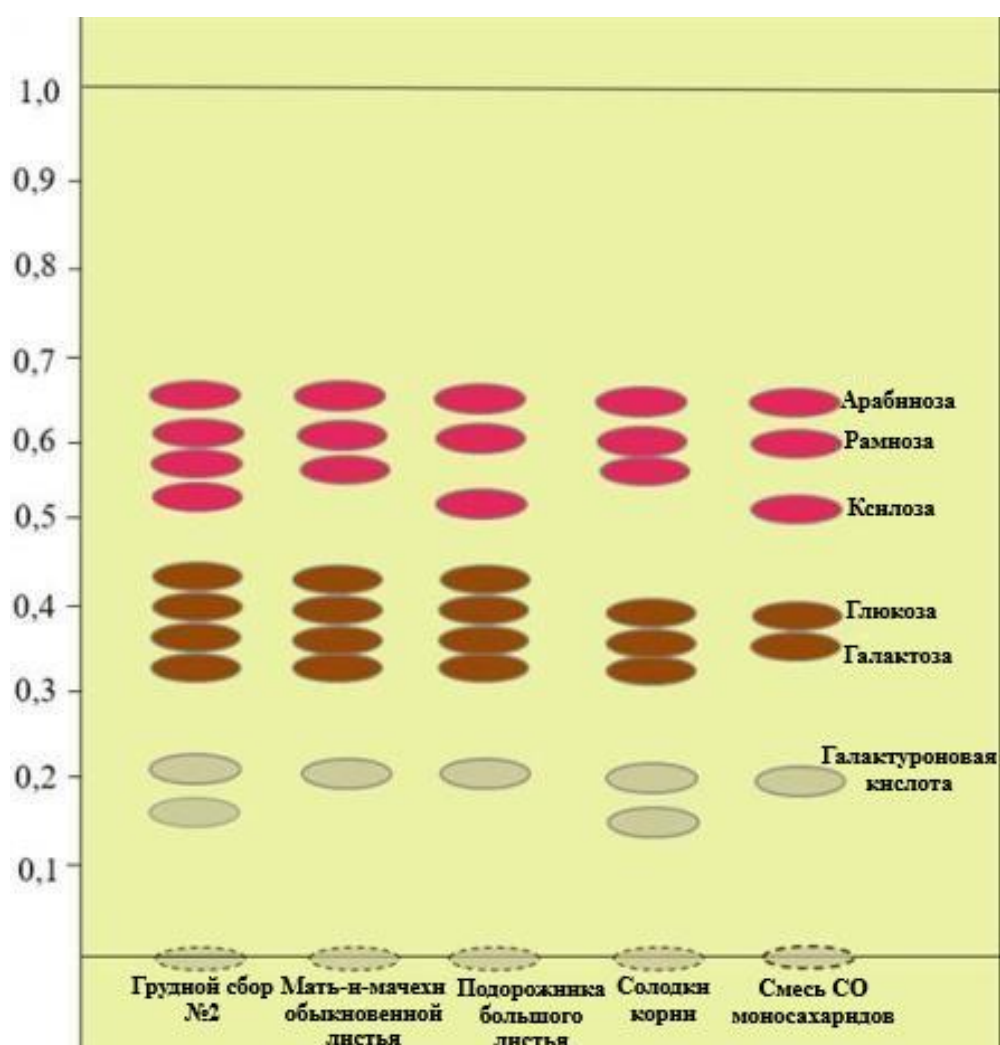


Рисунок 16 – Схема хроматограммы сахаров извлечений сбора и его компонентов

В нижней трети пластинки фиксируются две сероватые зоны: одна совпадает с уровнем стандартного образца галактуроновой кислоты ($R_f=0,22$), а вторая располагается несколько ниже ($R_f=0,18$). Средняя же треть несет четыре

коричневатые зоны, где нижняя характеризуется $R_f=0,34$, затем следует зона на уровне СО галактозы ($R_f=0,37$), после – соответствующая СО глюкозы ($R_f=0,40$), и замыкает ряд верхняя с $R_f=0,43$, тогда как верхняя треть пластинки проступает четырьмя зонами розового или красного оттенка: от нижней, совпадающей со стандартом ксилозы ($R_f=0,55$), через зоны с $R_f=0,57$ и на уровне СО рамнозы ($R_f=0,60$) до последней на отметке СО арабинозы ($R_f=0,65$). Всего обнаруживается десять зон.

При хроматографическом анализе водного извлечения листьев мать-и-мачехи обыкновенной установлено наличие нескольких зон адсорбции. В нижней части хроматограммы регистрируется одна зона сероватого цвета ($R_f=0,22$), идентичная по расположению стандарту галактуроновой кислоты. В средней части пластинки выявлены четыре зоны коричневатого оттенка: нижняя с $R_f=0,34$, затем зона, совпадающая с СО галактозы ($R_f=0,37$), зона на уровне СО глюкозы ($R_f=0,40$) и верхняя зона с $R_f=0,43$. В верхней трети пластинки наблюдаются три зоны розовой или красной окраски: нижняя ($R_f=0,57$), зона на уровне СО рамнозы ($R_f=0,60$) и зона, соответствующая СО арабинозы ($R_f=0,65$).

На хроматограмме водного извлечения подорожника большого листьев наблюдаются следующие зоны адсорбции: 1 зона адсорбции сероватого цвета в нижней трети пластинки на уровне СО галактуроновой кислоты ($R_f=0,22$); 3 зоны адсорбции коричневатого цвета в средней трети пластинки – нижняя с $R_f=0,34$, на уровне СО галактозы ($R_f=0,37$) и верхняя на уровне СО глюкозы ($R_f=0,40$); 3 зоны адсорбции в верхней трети пластинки розового или красного цвета нижняя на уровне СО ксилозы ($R_f=0,55$), на уровне СО рамнозы ($R_f=0,60$) и на уровне арабинозы ($R_f=0,65$).

На хроматограмме водного извлечения ГС №2 наблюдаются следующие зоны адсорбции: 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 $R_f=0,43$; 3 зоны адсорбции в верхней трети пластинки розового или красного цвета – нижняя зона

адсорбции с $R_f=0,57$, на уровне СО рамнозы ($R_f=0,60$) и на уровне арабинозы ($R_f=0,65$).

Полученные результаты подтверждают наличие основных простых сахаров в составе сбора и его компонентов и согласуются с литературными данными.

4.3. Определение содержания полисахаридов методом гравиметрии в грудном сборе №2 и настое

Поскольку согласно литературным данным и данным, полученным при предварительном анализе качественными реакциями и ТСХ, в химическом составе ГС №2 обнаружены полисахариды, представилось целесообразным определение их содержания.

Количественное определение полисахаридов в ГС №2 проводили согласно фармакопейной методике, упомянутой в соответствующем разделе работы, методом гравиметрии.

Результаты сведены в Таблицу 12.

Таблица 12 –Содержание ПСХ в сборе и входящем в его состав ЛРС (n = 5, P = 0,95, t = 2,57)

[illegible]

Продолжение Таблицы 12

[illegible]

Продолжение Таблицы 12

Подорожника большого листьев настой	6,34	6,23	6,15	6,30	6,10	6,22± 0,10	0,05	0,0100	0,1001	1,61
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	4,61	4,75	4,72	4,88	4,55	4,70± 0,13	0,06	0,0165	0,1283	2,73
Солодки корней настой	1,28	1,26	1,09	1,06	1,18	1,17± 0,10	0,05	0,0097	0,0984	8,38
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредств а», настой)	3,30	3,18	3,20	3,11	3,42	3,24± 0,12	0,06	0,0145	0,1205	3,72
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	3,48	3,28	3,56	3,44	3,35	3,42± 0,11	0,05	0,0120	0,1096	3,20

Таким образом, максимальное содержание полисахаридов характерно для листьев подорожника (12,96-14,57 % в сырье, 1,32-6,43 % в настоях), минимальное – для корней солодки (3,96-4,83 % в ЛРС, 0,33-1,28 % в водных извлечениях). Содержание полисахаридов в мать-и-мачехи обыкновенной листьях составило 11,17-12,02 % в ЛРС и 1,07-5,09 % в настоях.

Как для измельчённой, так и для порошковой форм ГС №2, полученных от обоих производителей, содержание полисахаридов находилось в следующих диапазонах: 8,33-10,02 % в лекарственном растительном сырье и 0,82-3,84 % в настоях.

Полученные данные свидетельствуют о том, что наибольший вклад в содержание полисахаридов в ГС №2 вносит компонент сбора подорожника большого листа.

Процент перехода ПСХ в водное извлечение, приготовленное согласно инструкции по медицинскому применению ЛП, составляет 8,18-15,37 % для ГС №2, 8,90-11,10 % для мать-и-мачехи обыкновенной листьев, 9,15-12,89 % для подорожника большого листьев, 6,43-14,90 % для солодки корней. Процент перехода полисахаридов в водное извлечение, приготовленное ОФС «Настои и отвары» ГФ РФ XV изд., составляет 31,04-46,10 % для ГС №2, 37,85-45,57 % для мать-и-мачехи обыкновенной листьев, 41,87-50,23 % для подорожника большого листьев, 19,10-32,32 % для солодки корней. Средний процент перехода полисахаридов в водное извлечение для ГС №2 – 27,14 %, для мать-и-мачехи

обыкновенной листьев – 31,69 %, для подорожника большого листьев – 29,69 %, для солодки корней – 19,38 %.

4.4. Определение суммы полисахаридов и свободных сахаров в пересчёте на глюкозу в грудном сборе №2 и настое

Зарегистрированы спектры поглощения продуктов взаимодействия комплекса сахаров грудного сбора №2 с пикриновой кислотой, а также стандартного образца глюкозы с тем же реагентом. Оба спектра характеризуются наличием максимума светопоглощения в области 470 ± 2 нм (Рисунок 17).

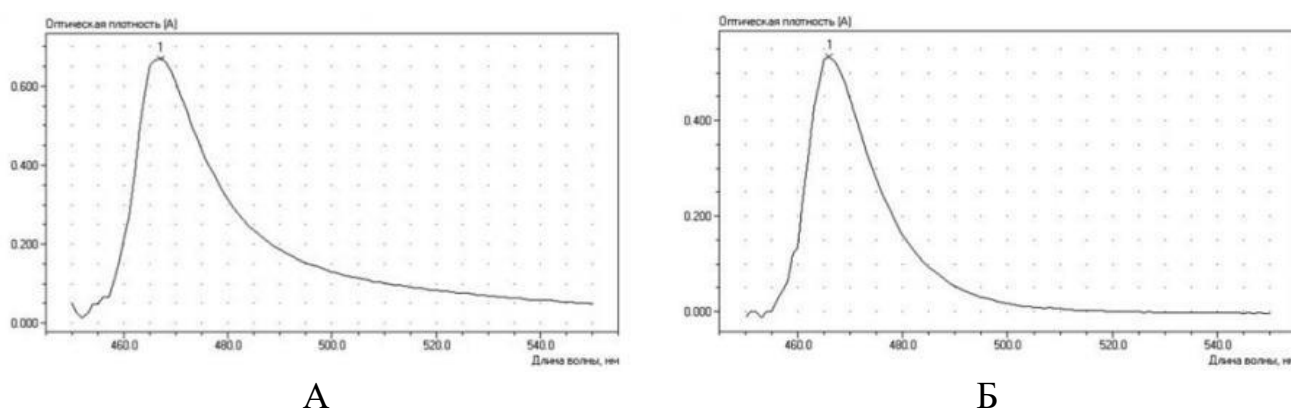


Рисунок 17 – Спектры поглощения комплексов сахаров ГС №2 (А) и СО Glc (Б) с пикриновой кислотой (470 ± 2 нм)

Сумму полисахаридов и свободных сахаров (в пересчете на глюкозу) в абсолютно сухом сырье грудного сбора №2 и каждом его отдельном компоненте определяли спектрофотометрически. Результаты обобщены в Таблице 13 ($n = 5$, $P = 0,95$, $t = 2,57$).

Таблица 13 – Содержание ПСХ и свободных сахаров в сборе и входящем в его состав ЛРС

Наименование	Содержание, %						ΔX	S^2	S	RSD
	1	2	3	4	5	Среднее				
Измельчённое ЛРС, выпускаемое в пачках										
Подорожника большого листа	19,98	20,45	20,24	21,30	20,71	20,54± 0,50	0,24	0,2545	0,5045	2,46

Продолжение Таблицы 13

Мать-и-мачехи обыкновенной листья	17,78	18,35	17,97	18,66	18,19	18,19± 0,34	0,16	0,1158	0,3402	1,87
Солодки корни	6,52	7,45	7,01	7,13	6,89	7,00± 0,34	0,16	0,1155	0,3399	4,86
Грудной сбор №2 («Красногорсклексред ства», сбор измельчённый)	12,57	12,04	11,47	12,76	13,05	12,38± 0,63	0,29	0,3933	0,6271	5,07
Грудной сбор №2 («Здоровье», сбор измельчённый)	12,31	11,34	11,97	11,23	12,48	11,87± 0,56	0,26	0,3165	0,5626	4,74
<i>ЛРС-порошок, выпускаемое в фильтр-пакетах</i>										
Подорожника большого листья	21,09	20,12	20,43	20,00	20,87	20,50± 0,47	0,22	0,2211	0,4702	2,29
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	18,45	18,96	18,67	18,32	18,09	18,50± 0,33	0,16	0,1109	0,3330	1,80
Солодки корни	6,81	6,42	6,91	7,27	7,10	6,90± 0,32	0,15	0,1039	0,3223	4,67
Грудной сбор №2 («Красногорсклексред ства», сбор-порошок)	13,43	11,45	12,22	11,80	13,09	12,40± 0,84	0,39	0,7080	0,8414	6,79
Грудной сбор №2 («Здоровье», сбор- порошок)	12,09	11,13	12,32	11,77	11,46	11,75± 0,48	0,22	0,2273	0,4768	4,06
<i>Водное извлечение 1 из измельчённого ЛРС</i>										
Подорожника большого листьев настой	2,24	2,31	2,19	2,58	2,11	2,29± 0,18	0,08	0,0323	0,1798	7,87
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	1,84	1,95	1,77	2,00	1,90	1,89± 0,09	0,04	0,0082	0,0904	4,78
Солодки корней отвар	0,72	0,89	0,95	0,61	0,77	0,79± 0,14	0,06	0,0183	0,1354	17,18
Грудной сбор №2 («Красногорсклексред ства», настой)	1,45	1,31	1,38	1,50	1,29	1,39± 0,09	0,04	0,0080	0,0896	6,47
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	1,22	1,29	1,34	1,42	1,27	1,31± 0,08	0,04	0,0058	0,0760	5,81
<i>Водное извлечение 2 из измельчённого ЛРС</i>										
Подорожника большого листьев настой	10,11	10,87	11,07	9,96	10,41	10,49±0, 48	0,22	0,4776	0,2281	4,56
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	8,21	7,85	8,88	8,65	8,41	8,40± 0,40	0,19	0,1579	0,3974	4,73
Солодки корней отвар	2,01	1,94	1,83	1,89	1,90	1,91± 0,07	0,03	0,0044	0,0666	3,48
Грудной сбор №2 («Красногорсклексред ства», настой)	5,43	5,32	5,94	5,66	6,05	5,68± 0,31	0,15	0,0993	0,3150	5,55
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	5,13	5,02	5,35	5,29	5,71	5,30± 0,26	0,12	0,0695	0,2636	4,97

Продолжение Таблицы 13

<i>Водное извлечение 1 из ЛРС-порошка</i>										
Подорожника большого листьев настой	2,14	2,07	2,28	1,99	2,30	2,16± 0,13	0,06	0,0178	0,1335	6,19
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	1,82	1,97	2,01	1,81	1,89	1,90± 0,09	0,04	0,0079	0,0889	4,68
Солодки корней настой	0,68	0,82	0,78	0,70	0,63	0,72± 0,08	0,04	0,0059	0,0769	10,66
Грудной сбор №2 («Красногорсклексред ства, настой»)	1,56	1,64	1,41	1,33	1,39	1,46± 0,13	0,06	0,0166	0,1290	8,80
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	1,35	1,28	1,18	1,26	1,14	1,24± 0,09	0,04	0,0069	0,0832	6,70
<i>Водное извлечение 2 из ЛРС-порошка</i>										
Подорожника большого листьев настой	10,22	10,10	9,78	9,69	10,24	10,00± 0,26	0,12	0,0651	0,2551	2,55
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	8,64	8,35	9,05	8,52	8,78	8,67± 0,27	0,12	0,0706	0,2657	3,06
Солодки корней настой	1,72	1,68	1,84	1,88	1,63	1,75± 0,11	0,05	0,0113	0,1063	6,07
Грудной сбор №2 («Красногорсклексред ства», настой)	5,31	5,43	5,59	5,28	5,44	5,41± 0,12	0,06	0,0152	0,1231	2,28
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	5,14	5,37	5,31	5,22	5,08	5,22± 0,12	0,06	0,0141	0,1189	2,28

Таким образом, максимальное содержание полисахаридов с свободных сахаров характерно для листьев подорожника большого (19,98-21,30 % в сырье, 2,07-11,07 % в настоях), минимальное – для корней солодки (6,42-7,45 % в ЛРС, 0,61-2,01 % в водных извлечениях). Содержание суммы полисахаридов и свободных сахаров в мать-и-мачехи обыкновенной листьях составило 17,78-18,96 % в ЛРС и 1,77-9,05 % в настоях.

Полисахариды и свободные сахара ГС №2 сосредоточены преимущественно в листьях подорожника большого. Изучив порошковую и измельченную формы сбора от обоих производителей, установлены концентрации этих веществ в ЛРС (от 11,13 до 13,09 %) и в водных извлечениях (от 1,14 до 6,05 %).

В водное извлечение 1 переходит 8,49-14,73 % веществ для ГС №2, 9,34-11,30 % для мать-и-мачехи обыкновенной листьев, 9,34-12,91 % для подорожника большого листьев, 8,19-12,75 % для солодки корней. Процент перехода

полисахаридов и свободных сахаров в водное извлечение, приготовленное согласно ОФС «Настои и отвары» [129] ГФ РФ XV изд. составляет 37,38-54,36 % для ГС №2, 41,40-50,90 % для мать-и-мачехи обыкновенной листьев, 45,49-55,41 % для подорожника большого листьев, 21,88-31,31 % для солодки корней. Средний процент перехода полисахаридов и свободных сахаров в водное извлечение для ГС №2 – 31,43 %, для мать-и-мачехи обыкновенной листьев – 30,12 %, для подорожника большого листьев – 32,38 %, для солодки корней – 19,75 %.

4.5. Изучение сапонинов, флавоноидов и гидроксикоричных кислот грудного сбора №2

Для разделения и идентификации перечисленных в названии раздела групп биологически активных соединений в составе ГС №2 использовали метод УЭЖХ-МС/МС. Дополнительный анализ проводили с помощью ТСХ.

Идентификация методом ультраэффективной жидкостной хроматографии с тандемным квадрупольным масс-спектрометрическим детектированием

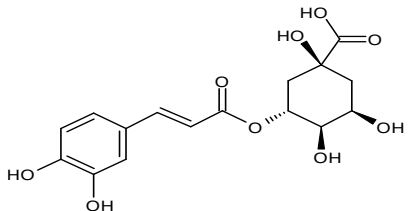
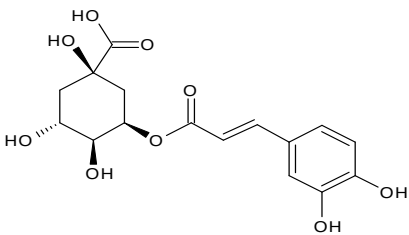
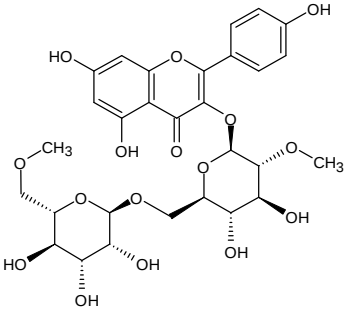
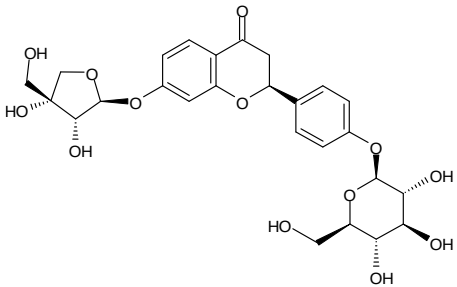
В ходе масс-спектрометрического сканирования в режимах регистрации положительных и отрицательных ионов были детектированы протонированные ($[M+H]^+$), натрий-аддуктированные ($[M+Na]^+$) и депротонированные ($[M-H]^-$) молекулярные ионы, что позволило рассчитать молекулярные массы исследуемых соединений. Дополнительный анализ фрагментационных спектров и УФ-характеристик дал основания для предположительной идентификации структуры агликоновых фрагментов.

Низкое содержание веществ мешает получить качественные спектры для ряда описанных в литературе соединений, ионизировать их в условиях электростатического распыления не удастся, а высокая липофильность задерживает их на колонке при полном отсутствии структурных формул в

литературных источниках. Часть веществ не обнаружена, особенно в корнях солодки – там сосредоточено много соединений с неизвестной структурой.

Ввиду того, что исследуемый образец содержит значительное число компонентов, в анализ включали только пики с площадью, превышающей 1 % от общей площади всех сигналов ($\lambda = 260$ нм). Соответствующие данные представлены в Таблице 14.

Таблица 14 – Соединения грудного сбора №2 с площадью пика не менее 1% от всех площадей при 260 нм

Наименование	Время удерживания (t_R)	Молекулярная масса	Длина волны	Предполагаемая структура
Хлорогеновая кислота	4.53	353	326	
Изохлорогеновая кислота	4.86	353	325	
Кемпферол-3-диметилглюкозил глюкозид	6.58	337	638	
Ликиритигенин 7-апиофуранозид-4'-глюкозид	8.59	550	272	

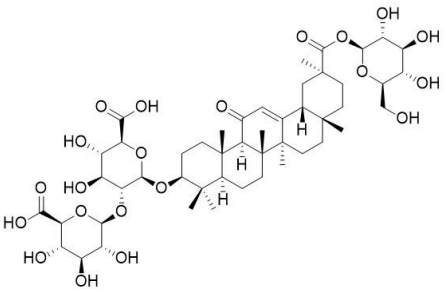
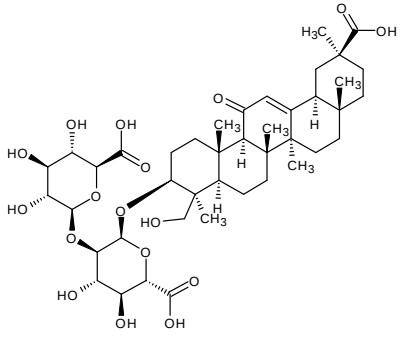
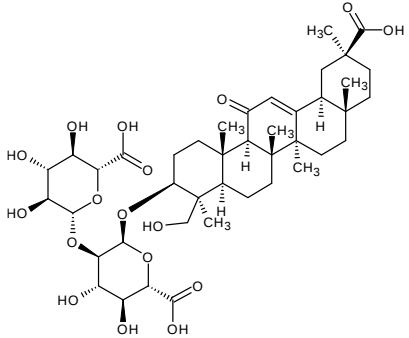
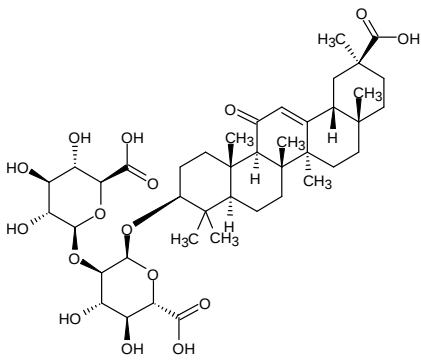
Продолжение Таблицы 14

Ликвиритигенин 4'-О- апиозилглюкозид	8.88	550	275	
Изокверцитрин	9.09	464	355	
Кемпферол-3- метилглюкозид	9.43	462	350	
3,5-Ди-О- кофеил-4-О- Муконолактонил- хинная кислота	9.98	640	338	
4,5-О- дикофеилхинная кислота	10.24	516	326	

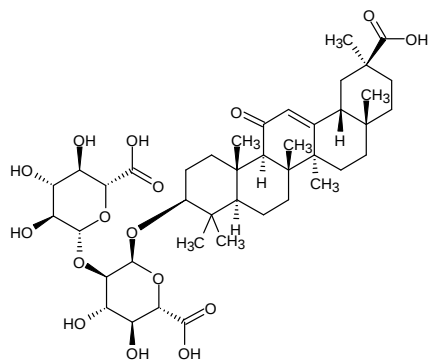
Продолжение Таблицы 14

3,5-О- дикофеилхинная кислота	10.53	516	326	
Кверцетин-Х	11.3	366	460	
1,3-О- дикофеилхинная кислота	11.56	516	326	
Кемпферол-3- малонилглюкозид	11.71	534	344	
256- Апиозилглюкозид (370 нм)	12.58	550	363	
268- Апиозилглюкозид (250 нм)	12.94	562	250	
изо-256- Апиозилглюкозид (370 нм)	13.07	550	372	
Кемпферол	14.94	348	286	
3,4,5- Трикафеоилхинная кислота	15.61	678	328	

Продолжение Таблицы 14

268- малонилглюкозид (250 нм)	15.97	516	250	
Ликвориссапонин А3	18.18	985	252	
Ликвориссапонин G2	19.62	838	252	
Изоликворисапонин G2	21.56	838	252	
Глицирризиновая кислота	23.12	822	252	

Продолжение Таблицы 14

Изоглицирризиновая кислота	24.99	822	250	
Неизвестное соединение	26.78	940	262	

Хроматограмма соединений из групп флавоноидов, сапонинов, ГКК, полученная при анализе 70 % метанольного извлечения из ГС №2, представлена на Рисунке 18.

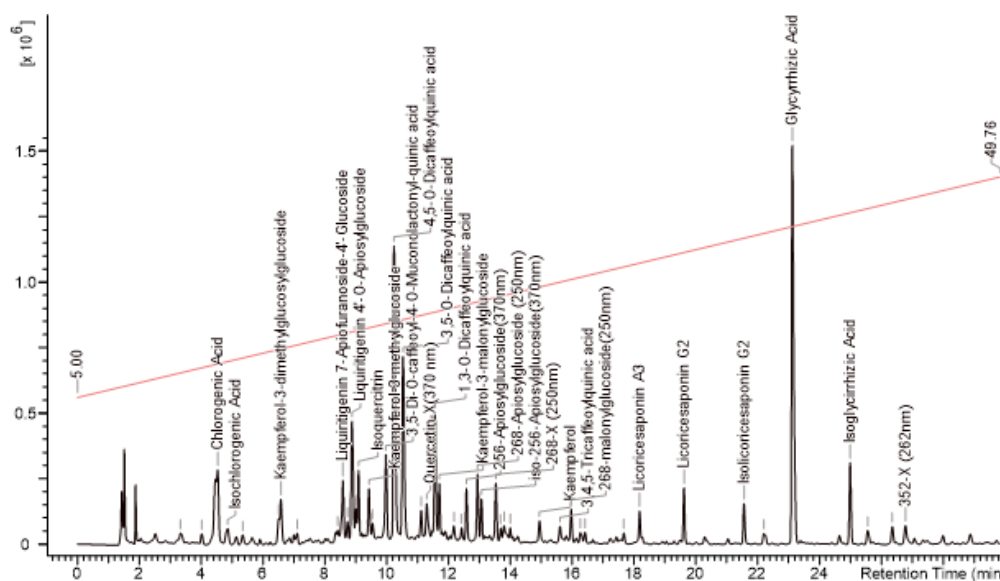


Рисунок 18 – Хроматограмма флавоноидов, сапонинов и гидроксикоричных кислот ГС №2

Наличие общего иона с m/z 353 в режиме положительной ионизации и сходных УФ-спектров (максимум поглощения около 330 нм) объединяет группу соединений с временами удерживания 4,53; 4,86; 9,98; 10,24; 10,53; 11,56 и

15,61 мин. На этом основании данные вещества отнесены к классу производных кофейной кислоты.

Пик при 4,53 мин по времени удерживания и спектральным характеристикам соответствует хлорогеновой кислоте. Для пика при 4,86 мин спектральные данные аналогичны хлорогеновой кислоте, что позволяет предположить его идентичность изохлорогеновой кислоте. Спектры представлены на Рисунке 19.

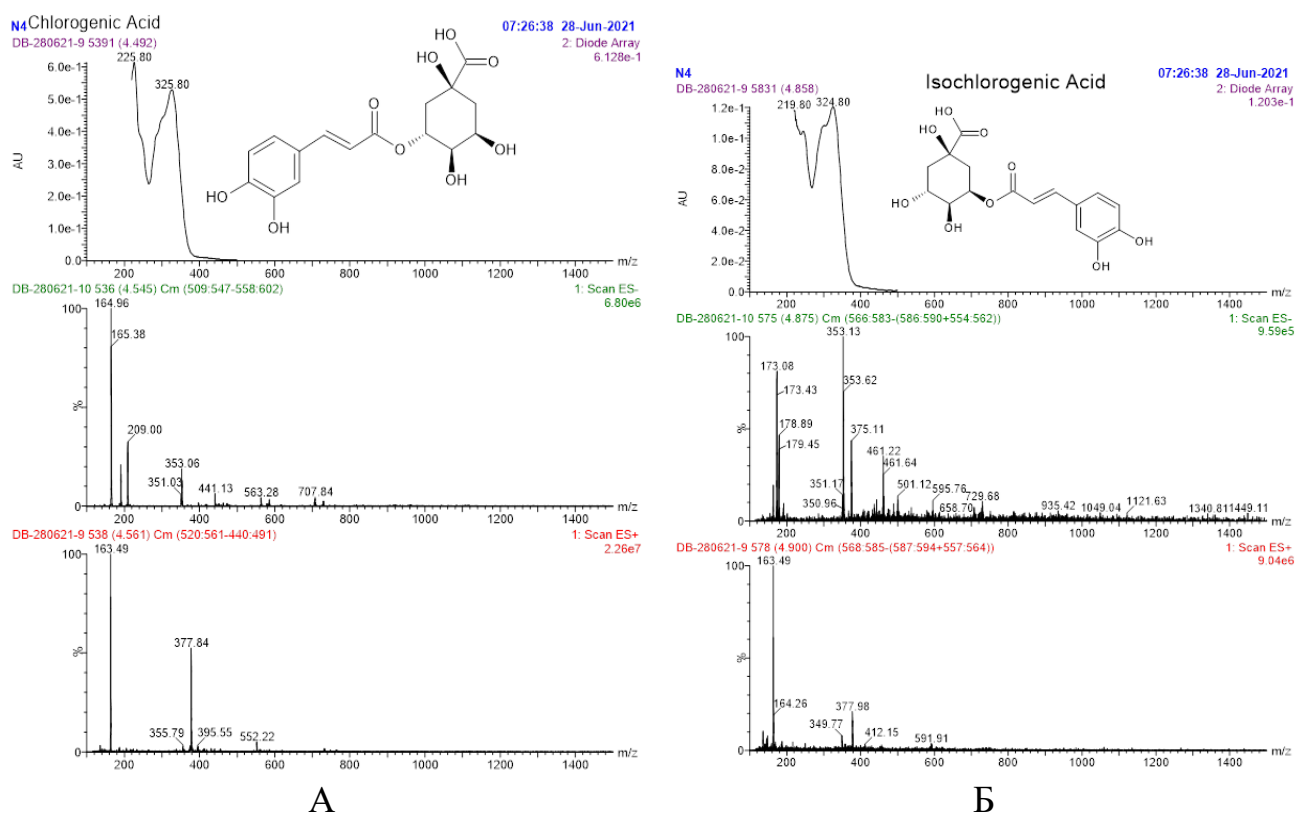
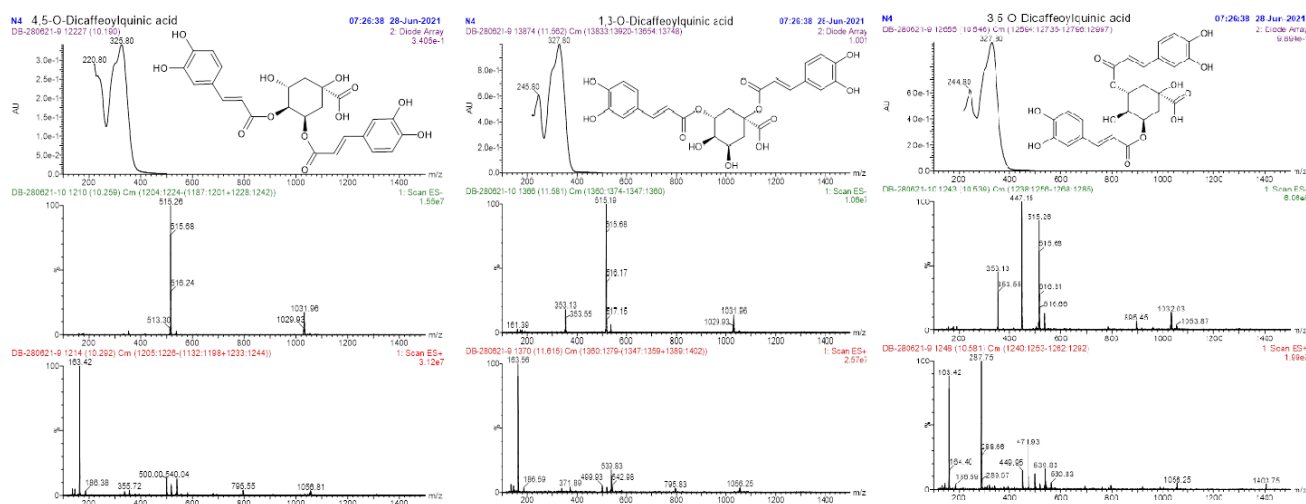


Рисунок 19 – Спектры хлорогеновой (А) и изохлорогеновой (Б) кислот: общий ион m/z 353 (ESI+) и максимум поглощения при 330 нм

Изомеры дикофеилхинной кислоты, по-видимому, представлены тремя соединениями, элюирующимися со временами удерживания 10,24, 10,53 и 11,56 мин. Их объединяет наличие в масс-спектрах (режим ESI–) характеристического иона с m/z 516, а также сходные УФ-спектры с максимумом поглощения около 326 нм. Различия в положении присоединения кофейной кислоты к хинной кислоте обуславливают разные времена удерживания изомеров (Рисунок 20).



А

Б

В

Рисунок 20 – Спектры 4,5-О-дикофеилхинной кислоты (А), 1,3-О-дикофеилхинной кислоты (Б), 3,5-О-дикофеилхинной кислоты (В): общий ион $m/z = 516$ (ESI-) и максимум поглощения при 326 нм

Соединение с $t_R=9,98$ мин, длиной волны 338 нм и $m/z=640$ в режиме регистрации негативных ионов может иметь структуру 3,5-ди-О-кофеоил-4-О-муконолактонил-хинной кислоты с точностью до мест присоединения (Рисунок 21).

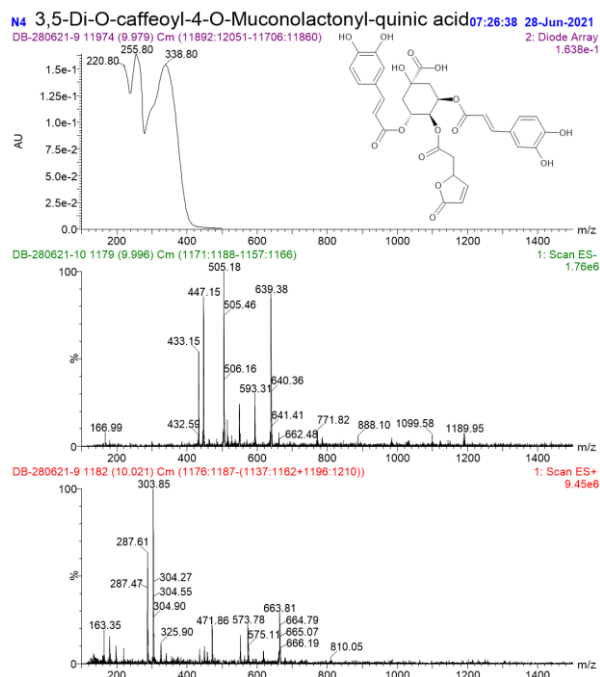


Рисунок 21 – Спектры 3,5-ди-О-кофеоил-4-О-муконолактонил-хинной кислоты: $m/z=640$ (ESI-) и максимум поглощения при 338 нм

Соединение с $t_R=15,61$ мин, длиной волны около 328 нм и $m/z=678$ в режиме регистрации негативных ионов может иметь структуру 3,4,5-трикофеоилхиновой кислоты с точностью до мест присоединения (Рисунок 22).

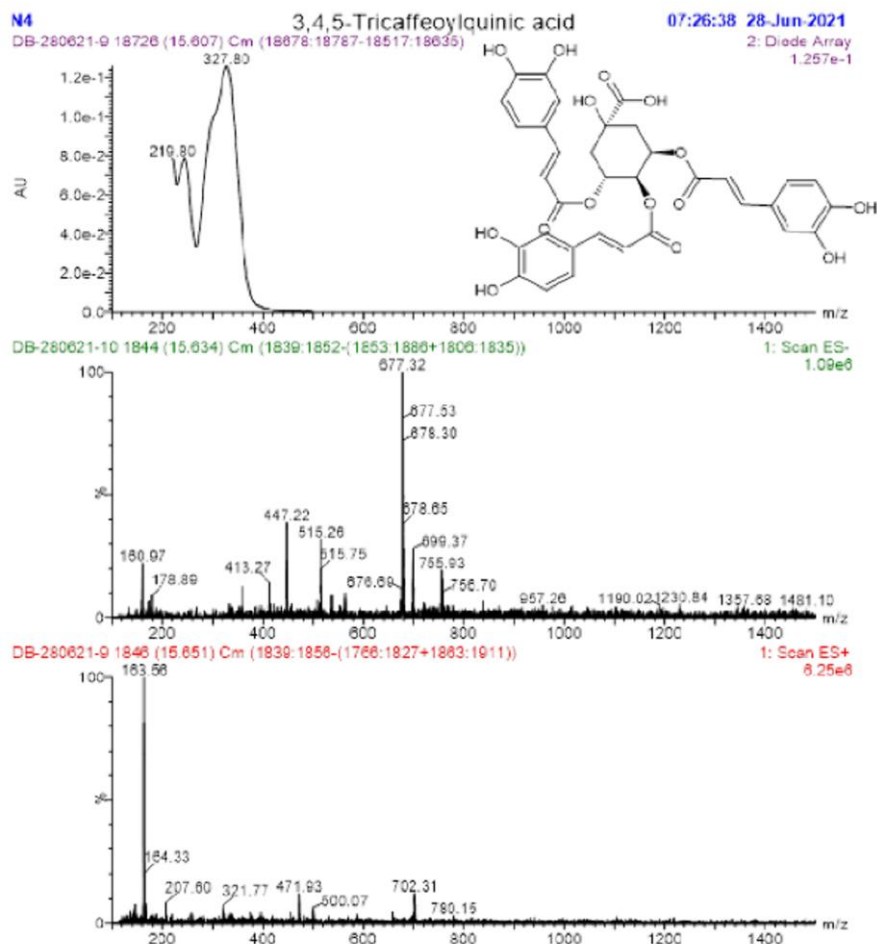


Рисунок 22 – Спектры 3,4,5-трикофеоилхиновой кислоты: $m/z=678$ (ESI-) и максимум поглощения при 328 нм

Соединения с $t_R=6,58, 9,43, 11,17$ и $14,94$ мин, длиной волны около 350 нм и $m/z=286$ (ESI+) могут иметь структуру производных кемпферола.

Соединение с $t_R=6,58$ мин, $m/z=638$ (ESI-) представляет собой кемпферол-3-диметилглюкозилглюкозид (с уточнением положения заместителей) (Рисунок 23).

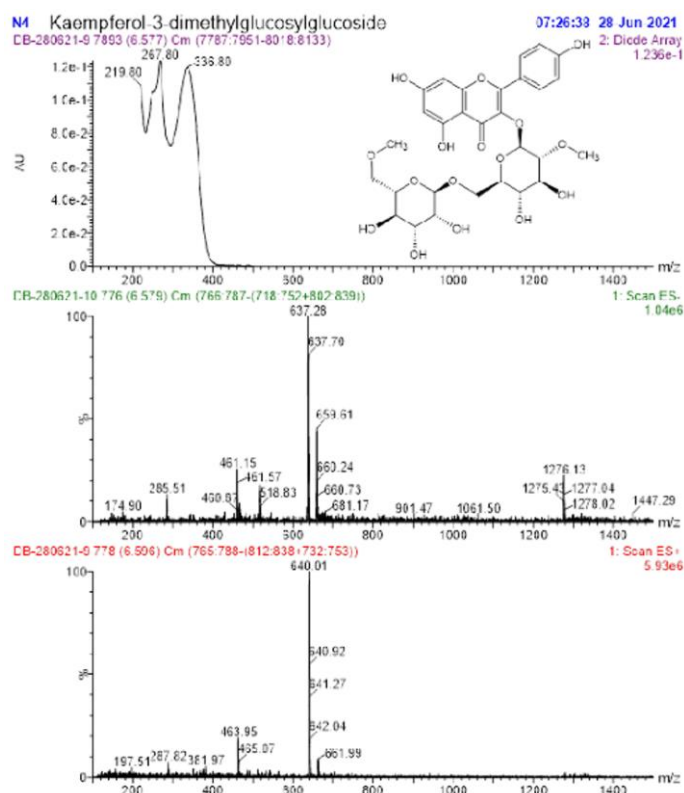


Рисунок 23 – Спектры кемпферол-3-диметилглюкозилглюкозида: $m/z = 638$ (ESI+) и максимум поглощения при 337 нм

Соединение с $t_R=9,43$ мин имеет $m/z = 462$ (ESI-) и возможную структуру кемпферол-3-метилглюкозида с точностью до мест присоединения (Рисунок 24).

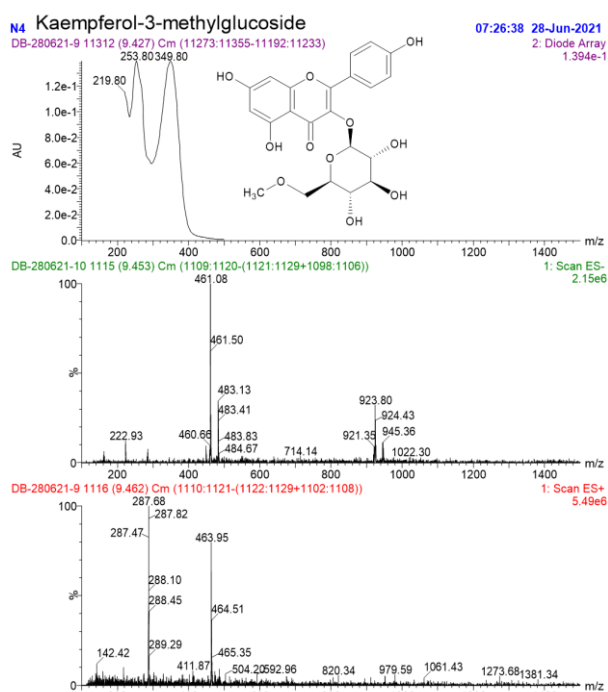


Рисунок 24 – Спектры кемпферол-3-метилглюкозида, $m/z = 534$ в режиме регистрации негативных ионов и длина волны=344 нм

Соединение с $t_R=11,71$ мин имеет $m/z=286$ в режиме регистрации негативных ионов и предположительно представляет собой структуру кемпферол-3-малонилглюкозида (Рисунок 25).

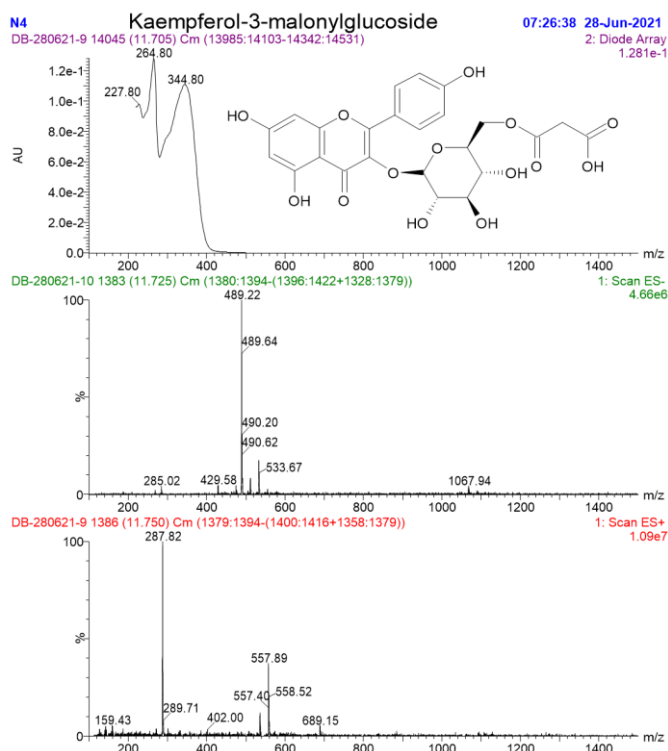


Рисунок 25 – Спектры кемпферол-3-малонилглюкозида, $m/z = 534$ в режиме регистрации негативных ионов и максимум поглощения при 344 нм

Соединение с $t_R=14,94$ мин имеет $m/z=286$ (ESI-) и предположительно представляет собой свободный кемпферол (Рисунок 26).

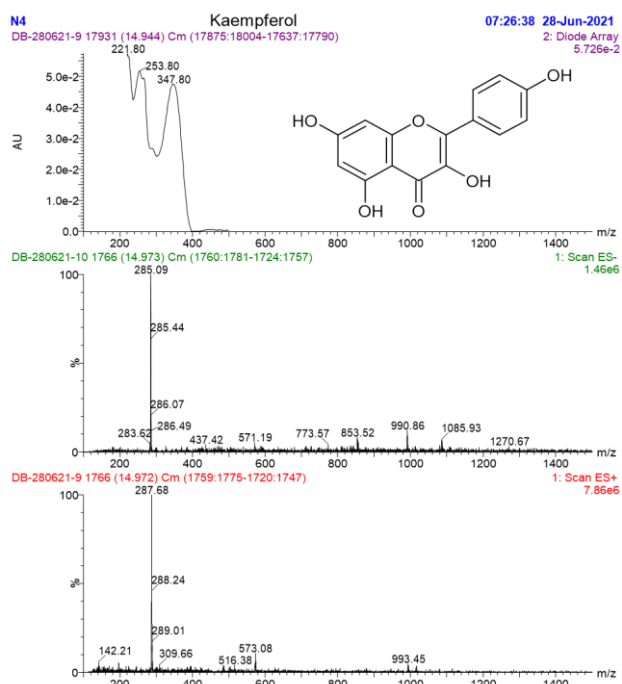


Рисунок 26 – Спектры кемпферола, $m/z = 286$ (ESI-), длина волны = 348 нм

Соединения с $t_R = 9,09$ и $11,3$ мин содержат фрагмент с $m/z = 302$ (ESI-) и максимум при $\lambda = 360$ нм (производные кверцетина).

Соединение с $t_R = 9,09$ мин имеет $m/z = 464$ (ESI-) и может принадлежать изокверцитрину (Рисунок 27).

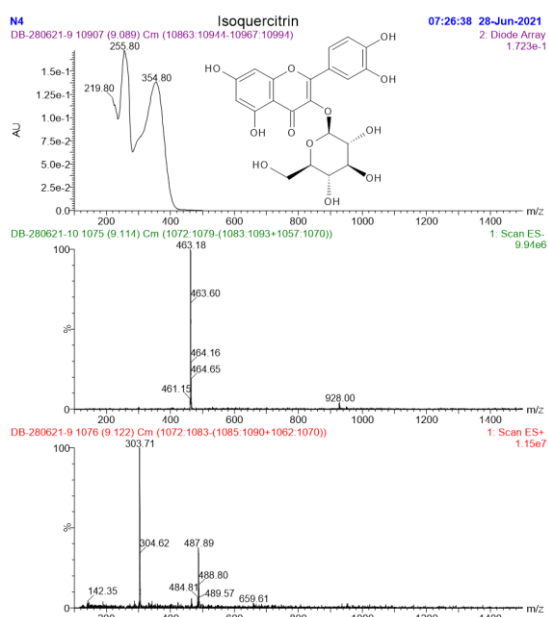


Рисунок 27 – Спектры изокверцитрина: $m/z = 464$ (ESI-) и максимум поглощения при 355 нм

Для соединения с $t_R=11,3$ мин характерно $m/z=460$ (ESI-). Для него не удалось найти подходящую структуру (Рисунок 28).

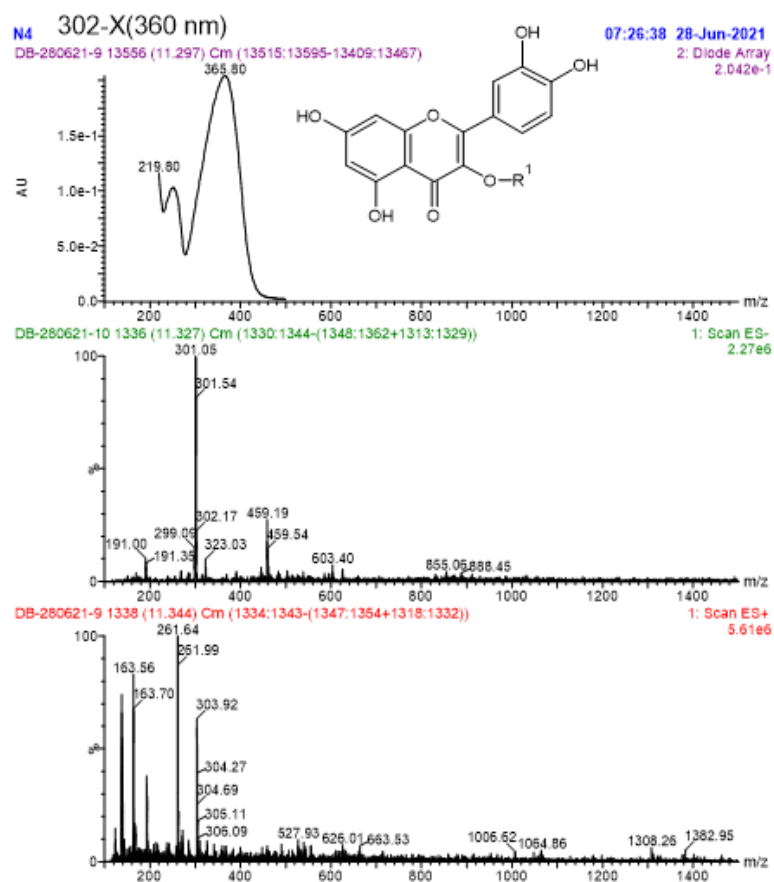
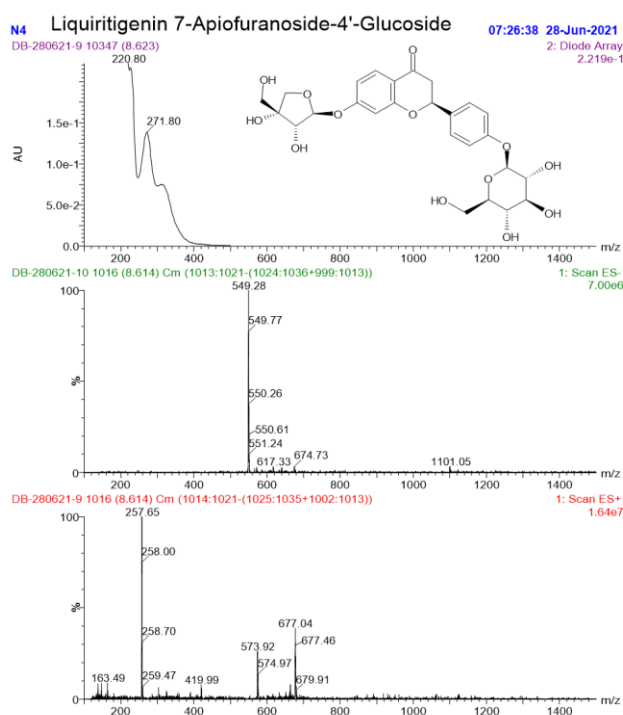
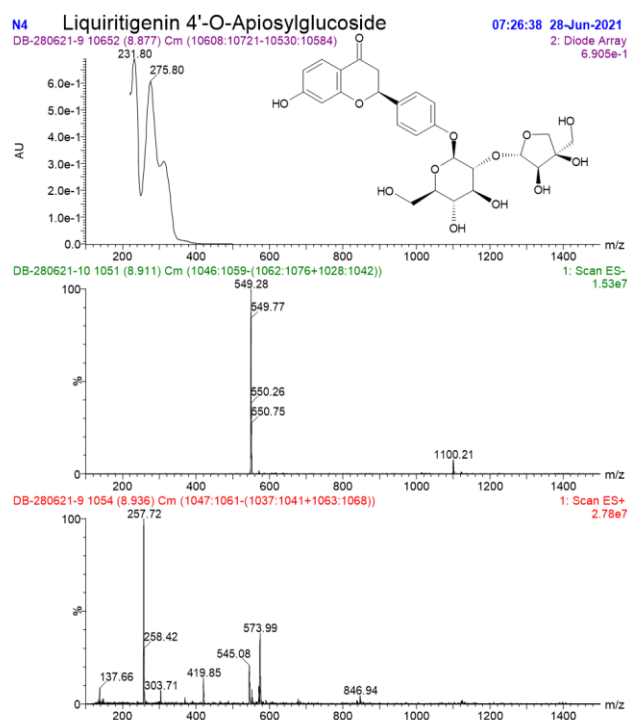


Рисунок 28 – Спектры неизвестного соединения: $m/z = 460$ (ESI-) и максимум поглощения при 355 нм

Соединения с $t_R=8,59$ и $t_R=8,88$ мин содержат один и тот же фрагмент с $m/z=257$ (ESI+) и $m/z=550$ (ESI-) и похожий УФ-спектр с максимумом около 272-275 нм. Исходя из этого, можно предположить, что все они являются изомерами апиозил-глюкозида ликвиритгенина (Рисунок 29).



А



Б

Рисунок 29 – Спектры ликвиритигенина 7-апиофуранозид-4'-глюкозида (А) и ликвиритигенина 4'-О-апиозилглюкозида (Б), $m/z=257$ в режиме регистрации позитивных ионов и $m/z = 550$ в режиме регистрации негативных ионов, длина волны = 272-275 нм

Пики с $t_R=18,18$, 23,12 и 24,99 мин содержат фрагмент с $m/z= 452$ (ESI-) и похожий УФ-спектр (длина волны=252 нм) (производные глицирретиновой кислоты).

Соединение с $t_R=18,18$ мин и с соотношением масса/заряд 985 предположительно является ликвориссапонином А3 (Рисунок 30).

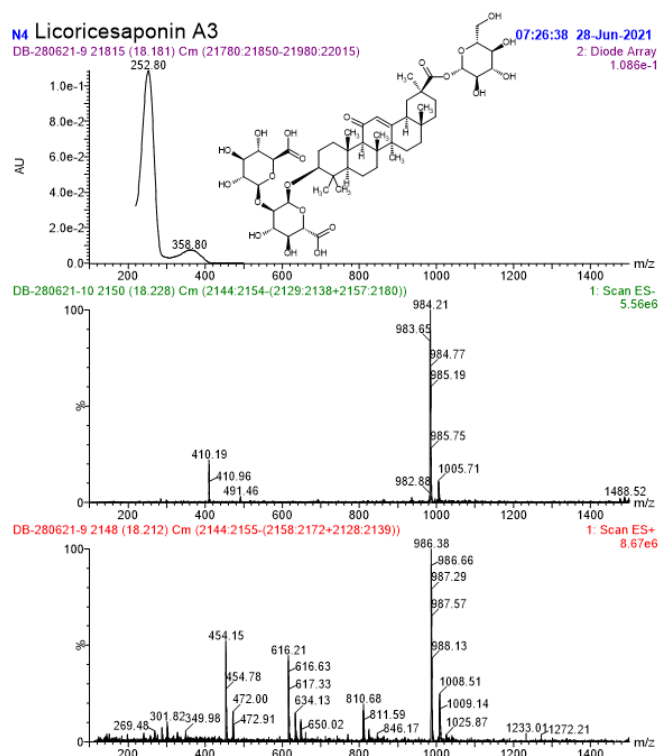


Рисунок 30 – Спектры ликвориссапонина А3: $m/z=985$ (ESI-) и максимум поглощения при 252 нм

Два пика с временами удерживания 23,12 и 24,99 мин имеют одинаковую массу 822 в режиме регистрации позитивных ионов. Предположительно, они являются изомерами ГК (Рисунок 31).

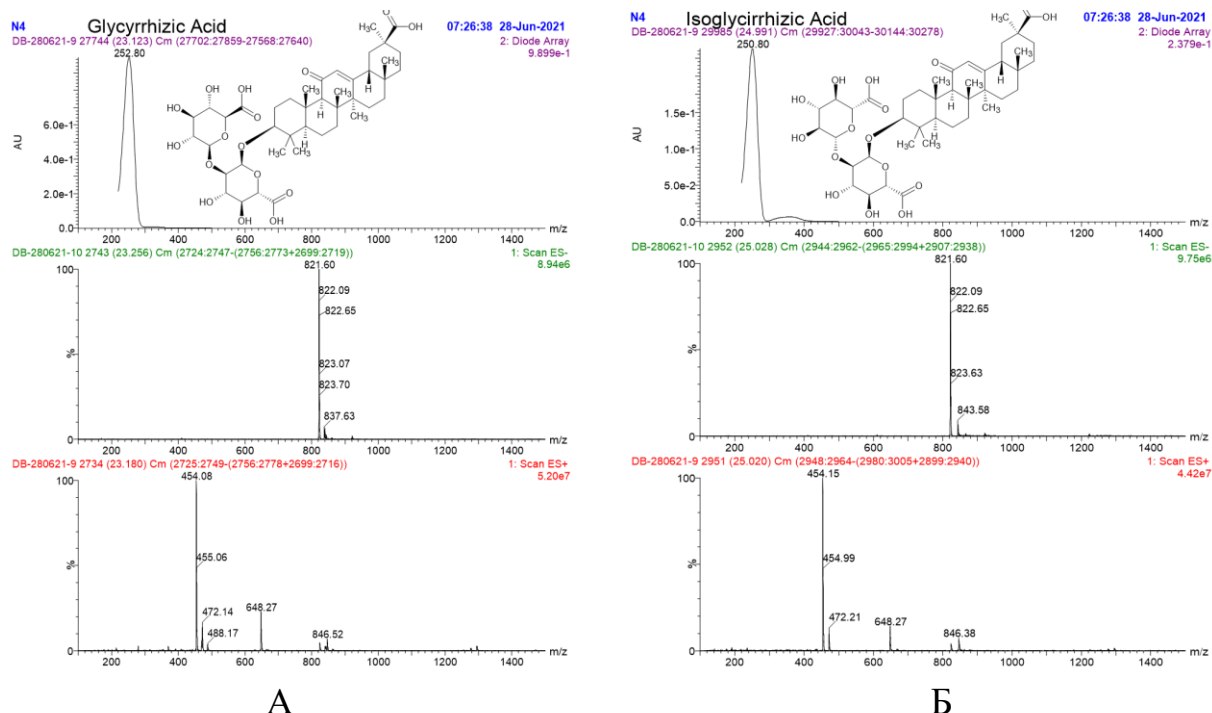


Рисунок 31 – Спектры глицирризиновой кислоты (А) и изоглицирризиновой кислоты (Б): общий ион с $m/z=822$ (ESI+) и максимум поглощения при 250-252 нм

Изомерные формы производного 24-гидроксиглицирретовой кислоты, по-видимому, представлены двумя соединениями, элюирующимися со временами удерживания 19,62 и 21,56 мин. Их объединяет наличие в масс-спектрах (режим ESI-) иона с m/z 838, соответствующего $[M-H]^-$, а в режиме положительной ионизации – характеристического фрагмента m/z 468. Их УФ-спектры схожи (длина волны=252 нм). Приведенные выше характеристики позволяют предположить, что по структуре данные соединения относятся к производным глицирретовой кислоты (Рисунок 32).

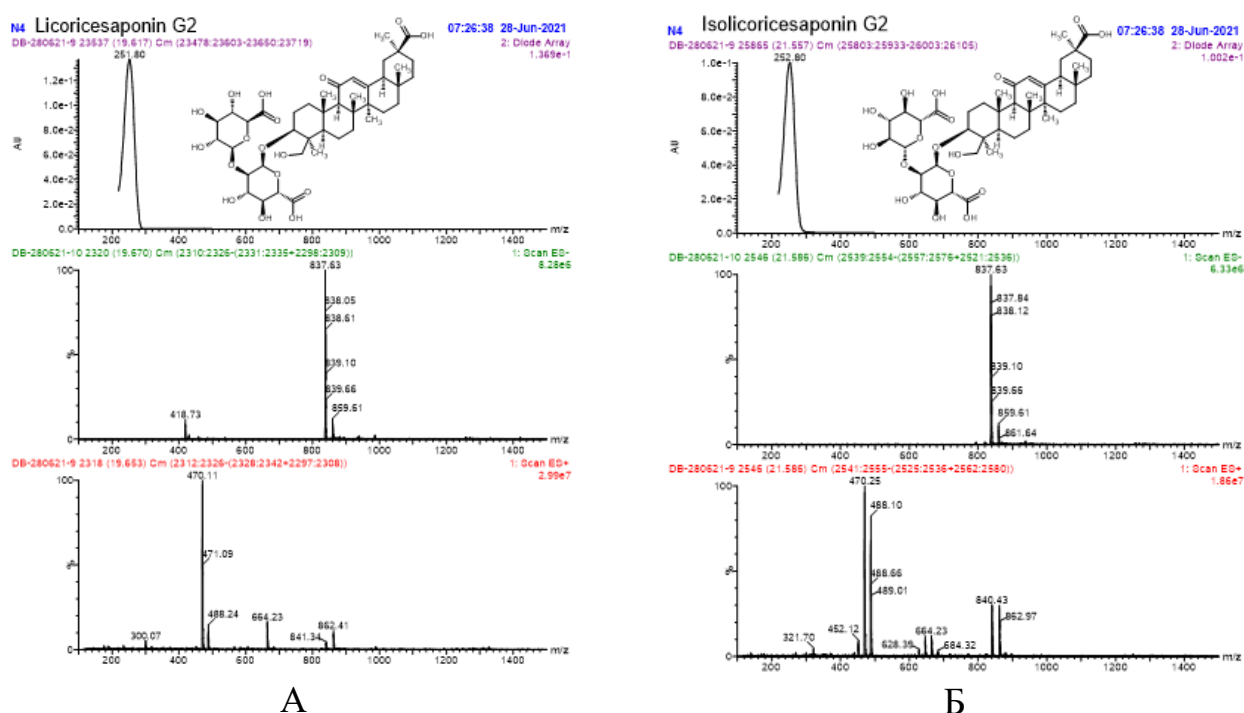


Рисунок 32 – Спектры ликвориссапонины G2 (А) и изоликвориссапонины G2 (Б): $m/z=838$ (ESI-), $m/z=468$ (ESI+) и максимум поглощения при 252 нм

Пики с $t_R=12,58$ и $13,07$ мин имеют одинаковое $m/z=550$ (ESI-), имеют фрагмент с $m/z=256$ (ESI+) и похожий УФ-спектр с максимумом около 370 нм. К сожалению, не удалось найти подходящую структуру для хромофорной части этих компонентов, но ясно, что они содержат углеводную часть и относятся к апиозилглюкозидам (Рисунок 33).

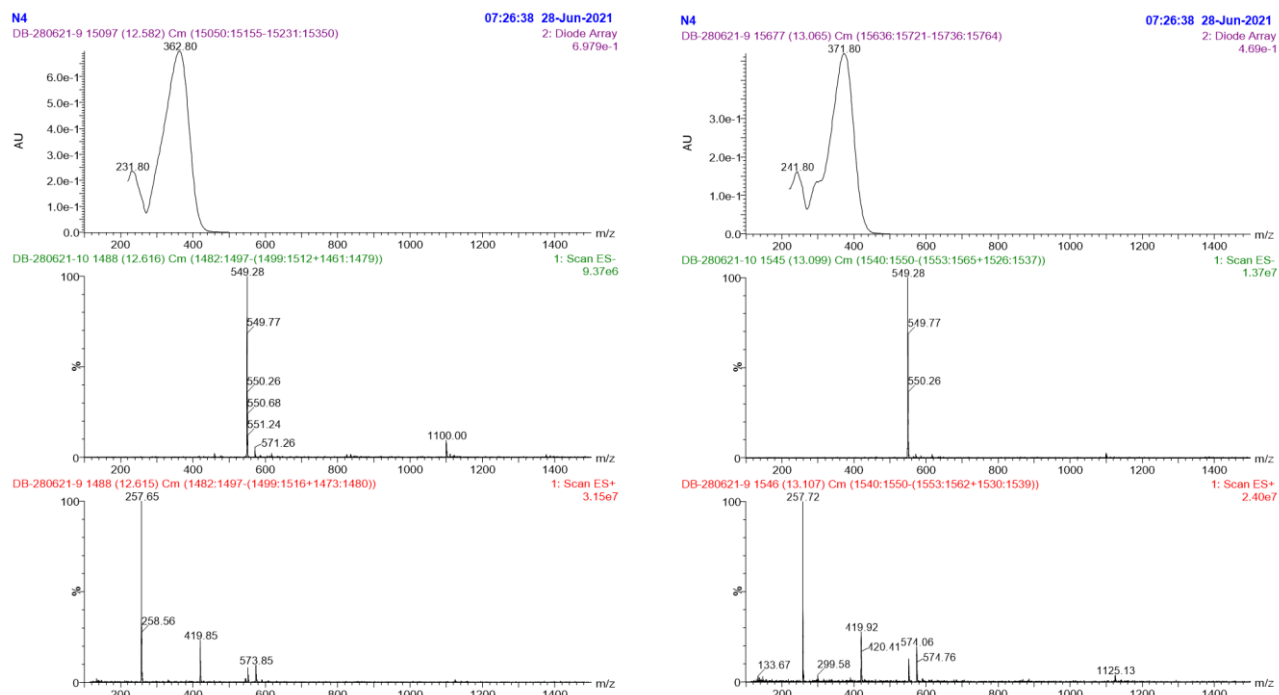


Рисунок 33 – Спектры (УФ и МС) неидентифицированных апиозилглюкозидов: $m/z=550$ (ESI-), $m/z=256$ (ESI+) и максимум поглощения при 370 нм

Соединения с $t_R=12.92$, 13,53 и 15,97 мин имеют $m/z=562$, 500, 516 (ESI-) и $m/z=268$ (ESI+). Наблюдается похожий УФ-спектр с максимумом около 250 нм. К сожалению, не удалось найти подходящую структуру для хромофорной части этих компонентов, но ясно, что первый содержит углеводную часть – апиозилглюкозид, а последний – малонилглюкозид (Рисунок 34).

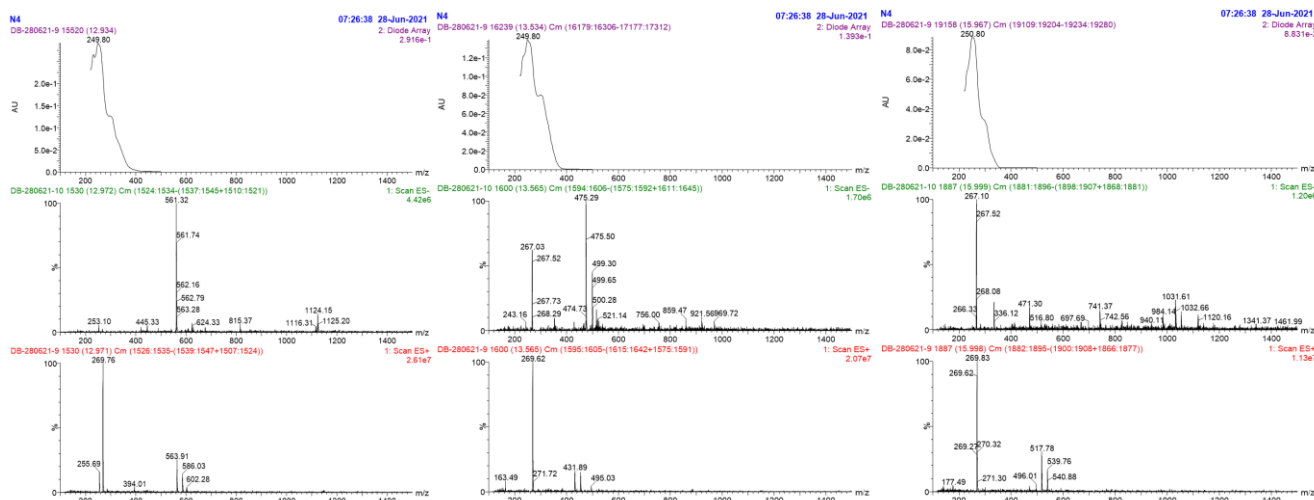


Рисунок 34 – Спектры неидентифицированных апиозилглюкозидов и малонилглюкозида: $m/z=562$, 500, 516 (ESI-), $m/z=268$ (ESI+) и максимум поглощения при 250 нм

Соединение с $t_R=26,78$ мин и $m/z=940$ в режиме регистрации негативных ионов, содержит фрагмент с $m/z=352$ в режиме регистрации позитивных ионов и аналогичный УФ-спектр с максимумом около 262 нм. К сожалению, не удалось найти подходящую структуру для хромофорной части (Рисунок 35).

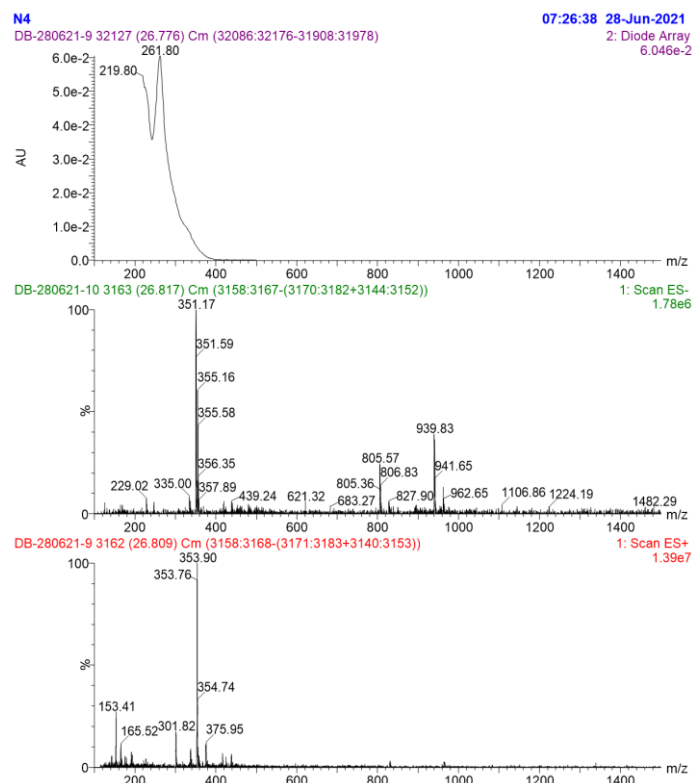


Рисунок 35 – УФ- и масс-спектры неидентифицированного соединения, $m/z=940$ в режиме регистрации негативных ионов, $m/z=352$ в режиме регистрации позитивных ионов, длина волны=262 нм

Методом УЭЖХ-УФ-МС/МС в 70 % метанольном извлечении из ГС №2 выявлен широкий спектр биологически активных соединений. Флавоноидная фракция включает кверцетин, изокверцетин, а также ряд производных ликвиритигенина и кемпферола. Гидроксикоричные кислоты представлены хлорогеновой кислотой и другими соединениями, образованными кофейной и хинной кислотами. Сапониновый комплекс идентифицирован как глицирризиновая кислота и ликвориссапонины.

Качественный анализ флавоноидов и гидроксикоричных кислот методом тонкослойной хроматографии

Результаты детектирования представлены на Рисунке 36.

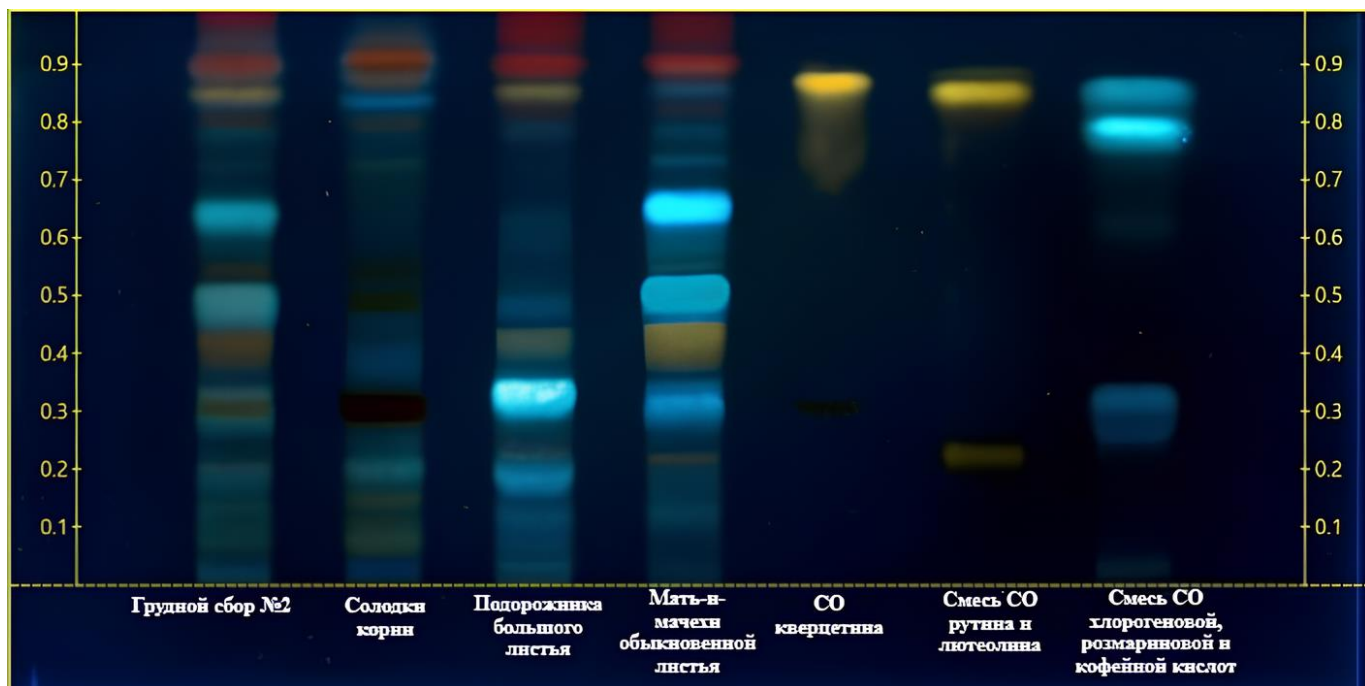


Рисунок 36 – Хроматограмма флавоноидов и гидроксикоричных кислот сбора и его компонентов

Обнаружено около 23 зон адсорбции на хроматограмме ГС №2. На хроматограмме испытуемого раствора компонента мать-и-мачехи обыкновенной листьев 13 зон адсорбции совпадают по цвету и положению с зонами адсорбции испытуемого раствора ГС №2. Среди них идентифицированы по цвету и R_f рутин, хлорогеновая и розмариновая кислоты. На хроматограмме испытуемого раствора компонента подорожника большого листьев 10 зон адсорбции совпадают по цвету и положению с зонами адсорбции испытуемого раствора ГС №2. Среди них идентифицированы по цвету и R_f рутин, хлорогеновая кислота и лютеолин. На хроматограмме испытуемого раствора солодки корней 10 зон адсорбции совпадают по цвету и положению с зонами адсорбции ГС №2. Среди них нет идентифицированных по цвету и R_f соединений.

Более детальная характеристика хроматограммы испытуемого раствора ГС №2 приведена в Таблице 15.

Таблица 15 – Анализ хроматограммы испытуемого раствора грудного сбора №2

№ зоны адсорбции	Цвет зоны адсорбции	R _f	Наименование соединения	Компонент
1	Светло-голубой	0,01	Не идентифицировано	ПБЛ, МИМОЛ
2	Светло-голубой	0,02	Не идентифицировано	МИМОЛ
3	Светло-синий	0,03	Не идентифицировано	СК
4	Желтовато-зелёный	0,04	Не идентифицировано	СК
5	Светло-голубой	0,05	Не идентифицировано	ПБЛ
6	Тёмно-жёлтый	0,08	Не идентифицировано	СК
7	Светло-жёлтый	0,10	Не идентифицировано	СК, МИМОЛ
8	Светло-голубой	0,12	Не идентифицировано	МИМОЛ, ПБЛ
9	Голубой	0,19	Не идентифицировано	ПБЛ
10	Жёлтый	0,22	Рутин	МИМОЛ, ПБЛ
11	Голубой	0,32	Хлорогеновая кислота	МИМОЛ, ПБЛ
12	Тёмно-зелёный	0,36	Не идентифицировано	МИМОЛ, ПБЛ
13	Оранжевый	0,42	Не идентифицировано	МИМОЛ
14	Голубой	0,49	Не идентифицировано	МИМОЛ
15	Коричневато-зелёный	0,54	Не идентифицировано	СК
16	Тёмно-зелёный	0,59	Не идентифицировано	СК, ПБЛ, МИМОЛ
17	Голубой	0,63	Не идентифицировано	МИМОЛ
18	Желтовато-зелёный	0,72	Не идентифицировано	СК
19	Голубой	0,79	Розмариновая кислота	МИМОЛ
20	Коричневый	0,81	Не идентифицировано	СК
21	Жёлтый	0,85	Лютеолин	ПБЛ
22	Коричневый	0,87	Не идентифицировано	СК
23	Оранжево-красный	0,90	Не идентифицировано	МИМОЛ, ПБЛ, СК
Примечание: МИМОЛ – мать-и-мачехи обыкновенной листья; ПБЛ – подорожника большого листья; СК – солодки корни				

Стоит отметить, что кофейная кислота была идентифицирована только на хроматограмме мать-и-мачехи обыкновенной листьев, а кверцетин – ни на одной из хроматограмм, что может быть объяснено незначительным содержанием кофейной кислоты в ГС №2, подорожника большого листьях и солодки корнях и кверцетина – в ГС №2 и его компонентах.

[illegible]

Продолжение Таблицы 16

Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	0,48	0,40	0,51	0,49	0,50	0,48± 0,04	0,02	0,0019	0,0439	9,23
<i>Водное извлечение 2 из измельчённого ЛРС</i>										
Солодки корней отвар	4,23	4,56	3,85	4,22	3,11	3,99± 0,55	0,26	0,3073	0,5544	13,88
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», настой)	1,89	1,82	1,66	1,85	1,76	1,80± 0,09	0,04	0,0080	0,0896	4,99
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	1,82	1,70	1,68	1,62	1,73	1,71± 0,07	0,03	0,0054	0,0735	4,30
<i>Водное извлечение 1 из ЛРС-порошка</i>										
Солодки корней настой	1,06	1,14	1,09	1,01	1,16	1,10± 0,06	0,03	0,0037	0,0606	5,55
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», настой)	0,37	0,39	0,42	0,46	0,37	0,40± 0,04	0,02	0,0015	0,0383	9,54
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	0,33	0,36	0,36	0,40	0,35	0,36± 0,03	0,01	0,0007	0,0255	7,08
<i>Водное извлечение 2 из ЛРС-порошка</i>										
Солодки корней настой	3,82	3,74	3,43	3,93	3,66	3,72± 0,19	0,09	0,0355	0,1885	5,07
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», настой)	1,60	1,55	1,55	1,68	1,64	1,60± 0,06	0,03	0,0032	0,0568	3,54
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	1,58	1,50	1,47	1,54	1,57	1,53± 0,05	0,02	0,0022	0,0466	3,04

Таким образом, содержание ГК в солодки корнях составляет 9,85–11,24 % в сырье и 1,01–4,56 % в водных извлечениях.

Содержание ГК в обеих формах сбора составило 4,36 –5,07 % в ЛРС и 0,40 – 1,89 % в его водных извлечениях.

Процент перехода ГК в водное извлечение 1 равнялся 6,51–12,98 % для сбора. Тогда как для солодки корней этот интервал лежал в пределах 8,99-13,60 %. Для водного извлечения, приготовленного по фармакопейной методике, показатель для ГС №2 достигает 28,99–43,35 %, для солодки корней – 27,67–46,29 %. Усредненные величины перехода ГК зафиксированы на уровне 24,93 % и 27,64 % соответственно

4.7. Количественный анализ суммы флавоноидов в грудном сборе №2 и его компонентах

Получены спектры поглощения комплексов с $AlCl_3$ ГС №2 с характерным максимумом в области 410-415 нм (Рисунок 37) [124].

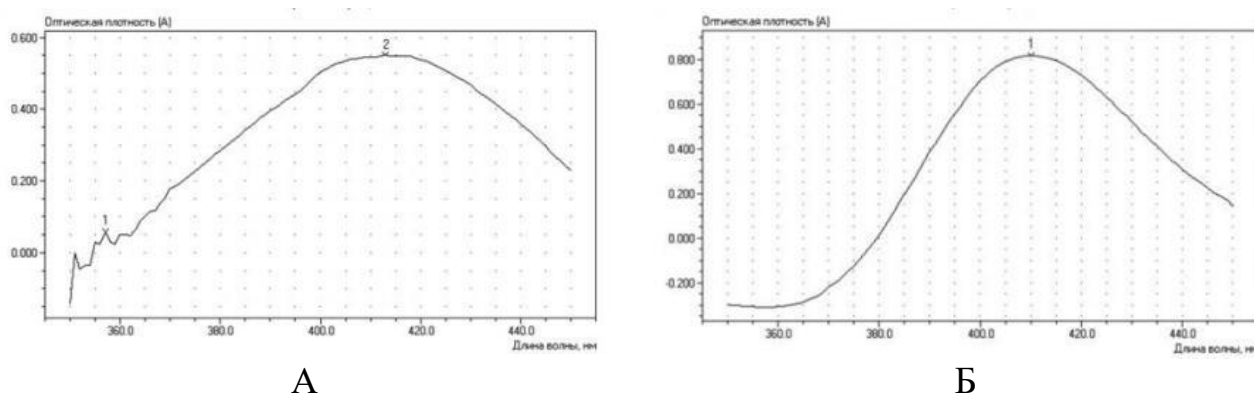


Рисунок 37 – Спектры поглощения комплекса алюминия хлорида с ГС №2 (А) и СО рутина (Б) ($\lambda=410-415$ нм)

Суммарное содержание флавоноидов (в пересчете на рутин) в образцах грудного сбора №2 и его компонентов устанавливали с помощью спектрофотометрического метода, образцы измеряли пятикратно ($n=5$), доверительная вероятность составила 0,95, а t -критерий – 2,57. Полученные результаты сведены в Таблицу 17.

Таблица 17 – Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в сборе и входящего в его состав ЛРС

Наименование	Содержание, %						ΔX	S ²	S	RSD
	1	2	3	4	5	Среднее				
Измельчённое ЛРС, выпускаемое в пачках										
Подорожника большого листья	1,01	0,88	0,93	1,05	0,96	0,97± 0,07	0,03	0,0044	0,0666	6,89
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,40	1,35	1,38	1,27	1,32	1,34± 0,05	0,02	0,0026	0,0513	3,82
Солодки корни	1,98	2,01	1,92	2,09	1,95	1,99± 0,07	0,03	0,0042	0,0652	3,28
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», сбор измельчённый)	1,74	1,69	1,58	1,58	1,83	1,73± 0,10	0,05	0,0115	0,1074	6,38

Продолжение Таблицы 17

Грудной сбор №2 («Здоровье», сбор измельчённый)	1,54	1,66	1,65	1,57	1,71	1,63± 0,07	0,03	0,0048	0,0695	4,27
<i>ЛРС-порошок, выпускаемое в фильтр-пакетах</i>										
Подорожника большого листья	0,84	0,81	0,90	0,92	0,85	0,86± 0,05	0,02	0,0020	0,0451	5,21
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,22	1,19	1,17	1,25	1,31	1,23± 0,05	0,03	0,0030	0,0550	4,48
Солодки корни	1,85	1,79	1,91	1,83	1,96	1,87± 0,07	0,03	0,0045	0,0672	3,60
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», сбор-порошок)	1,62	1,74	1,59	1,68	1,64	1,65± 0,06	0,03	0,0034	0,0581	3,51
Грудной сбор №2 («Здоровье», сбор-порошок)	1,55	1,50	1,62	1,48	1,57	1,54± 0,06	0,03	0,0031	0,0559	3,62
<i>Водное извлечение 1 из измельчённого ЛРС</i>										
Подорожника большого листьев настой	0,15	0,17	0,12	0,11	0,11	0,13± 0,03	0,01	0,0007	0,0268	20,33
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	0,27	0,31	0,26	0,22	0,21	0,25± 0,04	0,02	0,0016	0,0404	15,89
Солодки корней отвар	0,39	0,41	0,44	0,40	0,38	0,40± 0,02	0,01	0,0005	0,0230	5,70
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», настой)	0,28	0,26	0,26	0,30	0,23	0,27± 0,03	0,01	0,0007	0,0261	9,80
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	0,22	0,24	0,24	0,23	0,20	0,23± 0,02	0,01	0,0003	0,0167	7,40
<i>Водное извлечение 2 из измельчённого ЛРС</i>										
Подорожника большого листьев настой	0,32	0,29	0,36	0,31	0,30	0,32± 0,03	0,01	0,0007	0,0270	8,55
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	0,53	0,48	0,50	0,57	0,47	0,51± 0,04	0,02	0,0017	0,0406	7,96
Солодки корней отвар	0,68	0,73	0,63	0,70	0,65	0,68± 0,04	0,02	0,0016	0,0396	5,84
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», настой)	0,59	0,60	0,61	0,61	0,57	0,60± 0,02	0,01	0,0003	0,0167	2,81
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	0,55	0,57	0,58	0,60	0,60	0,58± 0,02	0,01	0,0004	0,0212	3,66
<i>Водное извлечение 1 из ЛРС-порошка</i>										
Подорожника большого листьев настой	0,11	0,13	0,15	0,10	0,10	0,12± 0,02	0,01	0,0005	0,0217	18,37
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	0,19	0,18	0,21	0,18	0,20	0,19± 0,01	0,01	0,0002	0,0130	6,79
Солодки корней настой	0,33	0,39	0,36	0,31	0,32	0,34± 0,03	0,02	0,0011	0,0327	9,56
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», настой)	0,21	0,20	0,17	0,20	0,23	0,20± 0,02	0,01	0,0005	0,0217	10,73

Продолжение Таблицы 17

Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	0,18	0,20	0,17	0,16	0,18	0,18± 0,01	0,01	0,0002	0,0148	8,33
<i>Водное извлечение 2 из ЛРС-порошка</i>										
Подорожника большого листьев настой	0,27	0,25	0,30	0,25	0,26	0,27± 0,02	0,01	0,0004	0,0207	7,80
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	0,44	0,44	0,46	0,42	0,49	0,45± 0,03	0,01	0,0007	0,0265	5,88
Солодки корней настой	0,68	0,59	0,61	0,63	0,63	0,63± 0,03	0,02	0,0011	0,0335	5,33
Грудной сбор №2 («Красногорсклекарств», настой)	0,56	0,56	0,55	0,55	0,56	0,56± 0,01	0,00	0,0001	0,0055	0,99
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	0,49	0,51	0,54	0,51	0,52	0,51± 0,02	0,01	0,0003	0,0182	3,53

Таким образом, максимальное содержание флавоноидов характерно для солодки корней (1,79-2,01 % в сырье, 0,31-0,73% в настоях), минимальное – для подорожника большого листьев (0,81-1,05% в ЛРС, 0,10-0,36 % в водных извлечениях).

Как для измельчённой, так и для порошковой форм ГС №2, полученных от обоих производителей, содержание флавоноидов находилось в следующих диапазонах: 1,48-1,83 % в лекарственном растительном сырье и 0,16-0,61 % в настоях.

Полученные данные свидетельствуют о том, что наибольший вклад в содержание флавоноидов в ГС №2 вносит компонент сбора подорожника большого листа.

Процент перехода флавоноидов в водное извлечение, приготовленное согласно инструкции по медицинскому применению ЛП составляет 8,74-20,27 % для ГС №2, 12,86-26,05 % для мать-и-мачехи обыкновенной листьев, 9,52-20,99 % для подорожника большого листьев, 14,83-24,58 % для солодки корней. Процент перехода флавоноидов в водное извлечение, приготовленное по методике описанной в фармакопее, составляет 26,78-41,22 % для ГС №2, 30,00-48,72 % для мать-и-мачехи обыкновенной листьев, 23,81-44,44 % для подорожника большого листьев, 28,23-40,78 % для солодки корней. Средний процент перехода флавоноидов в водное извлечение для ГС №2 – 24,98 %, для мать-и-мачехи

обыкновенной листьев – 30,79 %, для подорожника большого листьев – 26,98 %, для солодки корней – 27,81 %.

4.8. Количественный анализ дубильных веществ в грудном сборе №2 и его компонентах

В Таблице 18 систематизированы результаты титриметрического определения дубильных соединений в пересчёте на танин в объектах исследования.

Таблица 18 – Результаты с определения дубильных веществ в пересчёте на танин в грудном сборе №2 и его компонентах (n = 5, P = 0,95, t = 2,57)

Наименование	Содержание, %						ΔX	S^2	S	RSD
	1	2	3	4	5	Среднее				
Измельчённое ЛРС, выпускаемое в пачках										
Подорожника большого листья	5,14	5,32	5,23	5,11	5,18	5,20± 0,08	0,04	0,0068	0,0826	1,59
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	2,88	3,13	2,97	3,21	3,01	3,04± 0,13	0,06	0,0171	0,1308	4,30
Солодки корни	0,89	0,91	0,81	0,78	0,85	0,85± 0,05	0,03	0,0029	0,0540	6,37
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», сбор измельчённый)	3,45	3,40	3,45	3,64	3,52	3,49± 0,09	0,04	0,0087	0,0931	2,67
Грудной сбор №2 («Здоровье», сбор измельчённый)	3,39	3,32	3,41	3,47	3,44	3,41± 0,06	0,03	0,0032	0,0568	1,67
ЛРС-порошок, выпускаемое в фильтр-пакетах										
Подорожника большого листья	5,36	5,30	5,28	5,42	5,29	5,33± 0,06	0,03	0,0035	0,0592	1,11
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	3,05	3,00	2,92	3,11	3,08	3,03± 0,07	0,04	0,0056	0,0746	2,46
Солодки корни	0,76	0,71	0,72	0,76	0,79	0,75± 0,03	0,02	0,0011	0,0327	4,37
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», сбор-порошок)	3,64	3,52	3,69	3,60	3,49	3,59± 0,08	0,04	0,0069	0,0829	2,31
Грудной сбор №2 («Здоровье», сбор-порошок)	3,45	3,42	3,53	3,51	3,48	3,48± 0,04	0,02	0,0020	0,0444	1,28
Водное извлечение I из измельчённого ЛРС										
Подорожника большого листьев настой	0,78	0,94	0,73	0,87	0,90	0,84± 0,09	0,04	0,0075	0,0868	10,28
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	0,30	0,35	0,36	0,31	0,36	0,34± 0,03	0,01	0,0008	0,0288	8,57
Солодки корней отвар	0,09	0,10	0,10	0,12	0,09	0,10± 0,01	0,01	0,0002	0,0122	12,25

Продолжение Таблицы 18

Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», настой)	0,41	0,37	0,44	0,43	0,48	0,43± 0,04	0,02	0,0016	0,0404	9,48
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	0,34	0,35	0,47	0,42	0,35	0,39± 0,06	0,03	0,0032	0,0568	14,72
<i>Водное извлечение 2 из измельчённого ЛРС</i>										
Подорожника большого листьев настой	2,89	3,15	2,97	2,91	3,06	3,00± 0,11	0,05	0,0118	0,1085	3,62
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	1,59	1,63	1,57	1,61	1,55	1,59± 0,03	0,01	0,0010	0,0316	1,99
Солодки корней отвар	0,21	0,18	0,20	0,28	0,26	0,23± 0,04	0,02	0,0018	0,0422	18,67
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», настой)	1,91	1,90	1,93	1,87	1,84	1,89± 0,04	0,02	0,0012	0,0354	1,87
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	1,89	1,81	1,83	1,83	1,85	1,84± 0,03	0,01	0,0009	0,0303	1,65
<i>Водное извлечение 1 из ЛРС-порошка</i>										
Подорожника большого листьев настой	0,94	0,88	0,98	0,96	0,94	0,94± 0,04	0,02	0,0014	0,0374	3,98
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	0,28	0,30	0,28	0,28	0,26	0,28± 0,01	0,01	0,0002	0,0141	5,05
Солодки корней настой	0,12	0,09	0,13	0,11	0,06	0,10± 0,03	0,01	0,0008	0,0277	17,20
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», настой)	0,39	0,40	0,47	0,50	0,46	0,44± 0,05	0,02	0,0022	0,0472	10,64
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	0,41	0,38	0,38	0,40	0,35	0,38± 0,02	0,01	0,0005	0,0230	6,00
<i>Водное извлечение 2 из ЛРС-порошка</i>										
Подорожника большого листьев настой	3,13	3,02	3,06	3,08	3,11	3,08± 0,04	0,02	0,0018	0,0430	1,40
Мать-и-мачехи обыкновенной листьев настой	1,50	1,50	1,56	1,55	1,57	1,54± 0,03	0,02	0,0011	0,0336	2,19
Солодки корней настой	0,23	0,26	0,28	0,23	0,21	0,24± 0,03	0,01	0,0008	0,0277	11,47
Грудной сбор №2 («Красногорсклексредства», настой)	1,86	1,90	1,88	1,88	1,93	1,89± 0,03	0,01	0,0007	0,0265	1,40
Грудной сбор №2 («Здоровье», настой)	1,77	1,74	1,80	1,81	1,85	1,79± 0,04	0,02	0,0017	0,0416	2,32

Таким образом, максимальное содержание дубильных веществ характерно для листьев подорожника (5,11-5,42 % в сырье, 0,73-3,15 % в настоях), минимальное – для корней солодки (0,71-0,90 % в ЛРС, 0,09-0,28 % в водных

извлечениях). Содержание дубильных веществ в мать-и-мачехи обыкновенной листьях составило 2,88-3,21 % в ЛРС и 0,26-1,63 % в настоях.

Как для измельчённой, так и для порошковой форм ГС №2, полученных от обоих производителей, содержание дубильных веществ находилось в следующих диапазонах: 3,32-3,69 % в ЛРС и 0,34-1,93 % в настоях [124].

Полученные данные свидетельствуют о том, что наибольший вклад в содержание дубильных веществ в ГС №2 и водных извлечениях на его основе вносит компонент подорожника большого листа [124].

Процент перехода дубильных веществ в водное извлечение, приготовленное согласно инструкции по медицинскому применению ЛП составляет 9,27-15,06 % для ГС №2, 8,10-12,50 % для мать-и-мачехи обыкновенной листьев, 13,47 – 19,18 % для подорожника большого листьев, 6,59-18,31 % для солодки корней. Процент перехода дубильных веществ в водное извлечение, приготовленное ОФС «Настои и отвары» ГФ РФ XV изд. составляет 47,15-58,13 % для ГС №2, 46,73-56,60 % для мать-и-мачехи обыкновенной листьев, 53,32-61,64 % для подорожника большого листьев, 19,78-39,44 % для солодки корней. Средний процент перехода дубильных веществ в водное извлечение для ГС №2 – 33,67 %, для мать-и-мачехи обыкновенной листьев – 32,35 %, для подорожника большого листьев – 37,56 %, для солодки корней – 23,02 %.

4.9. Определение аминокислотного состава в грудном сборе №2 и его настое

В рамках изучения химического состава ГС №2 и его настоя представляло интерес определение качественного состава и количественного содержания свободных и связанных аминокислот. Анализ выполняли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией. Полученная хроматограмма представлена Рисунке 38.

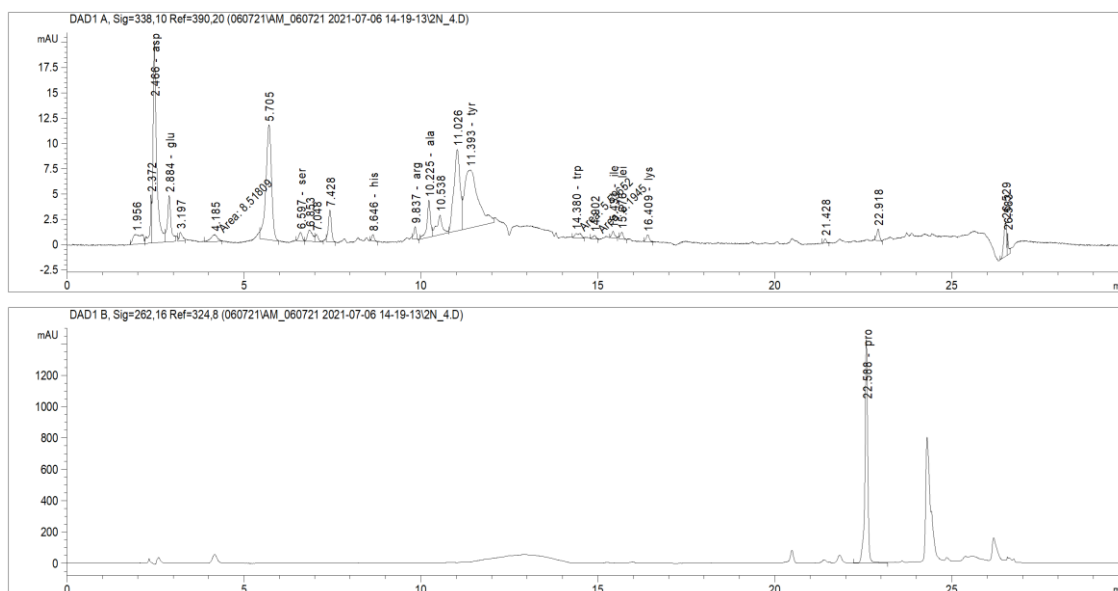


Рисунок 38 – ВЭЖХ-хроматограмма аминокислот в водном извлечении 2 ГС №2

Анализ аминокислотного состава ГС №2 позволил идентифицировать 13 соединений, 6 из которых отнесены к группе незаменимых (эссенциальных): гистидин, аргинин, изолейцин, триптофан, лейцин и лизин. Наибольший вклад среди эссенциальных аминокислот вносят аргинин, триптофан и лейцин, а среди заменимых – пролин, аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты. В следовых количествах в ГС №2 обнаружен глицин. Не представлены аминокислоты цистеин и валин. Суммарное содержание свободных аминокислот в настое ГС2-ГФ XV значительно выше (258,82 мг/100 мл), чем в настое ГС2-ИМП (40,67 мг/ 100 мл) (Таблица 19).

Таблица 19 – Содержание аминокислот в ГС №2 и настое на его основе

Наименование	ГС №2, мг/г	Настой 1, мг/100 мл	Настой 2, мг/100 мл
Аспарагиновая кислота	4,36	7,92	27,41
Глутаминовая кислота	0,74	1,51	4,42
Серин	0,18	0,27	1,31
Цистеин	-	-	-
Глицин	0,05	-	-
Гистидин	0,09	0,10	0,86
Аргинин	0,13	0,33	2,61
Аланин	0,21	0,52	2,06
Тирозин	3,08	8,71	19,15

Продолжение Таблицы 19

Валин	-	-	-
Триптофан	0,16	0,30	1,71
Изолейцин	0,13	0,17	1,65
Лейцин	0,13	0,18	1,84
Лизин	0,08	0,08	0,54
Пролин	21,28	20,58	195,26
Сумма аминокислот	30,62	40,67	258,82

Эффективность экстракции аминокислот в водное извлечение зависит от многих факторов, в числе которых рН-среды, гистологическая структура сырья и др. В настоящем исследовании был использован универсальный метод определения данной группы БАВ в природной матрице, позволяющий провести комплексную сравнительную оценку полученных результатов.

В качестве мажорных аминокислот, которые можно достоверно выявить при определении аминокислотного профиля ГС №2, могут быть рассмотрены пролин, аспарагиновая кислота, аланин, тирозин, что также подтверждается литературными данными об аминокислотном составе отдельных компонентов.

4.10. Определение жирнокислотного состава

На Рисунке 39 представлена хроматограмма, иллюстрирующая состав жирных кислот в грудном сборе №2. На ней зафиксированы времена удерживания внутренних стандартов, а также идентифицированных соединений и их стереоизомеров.

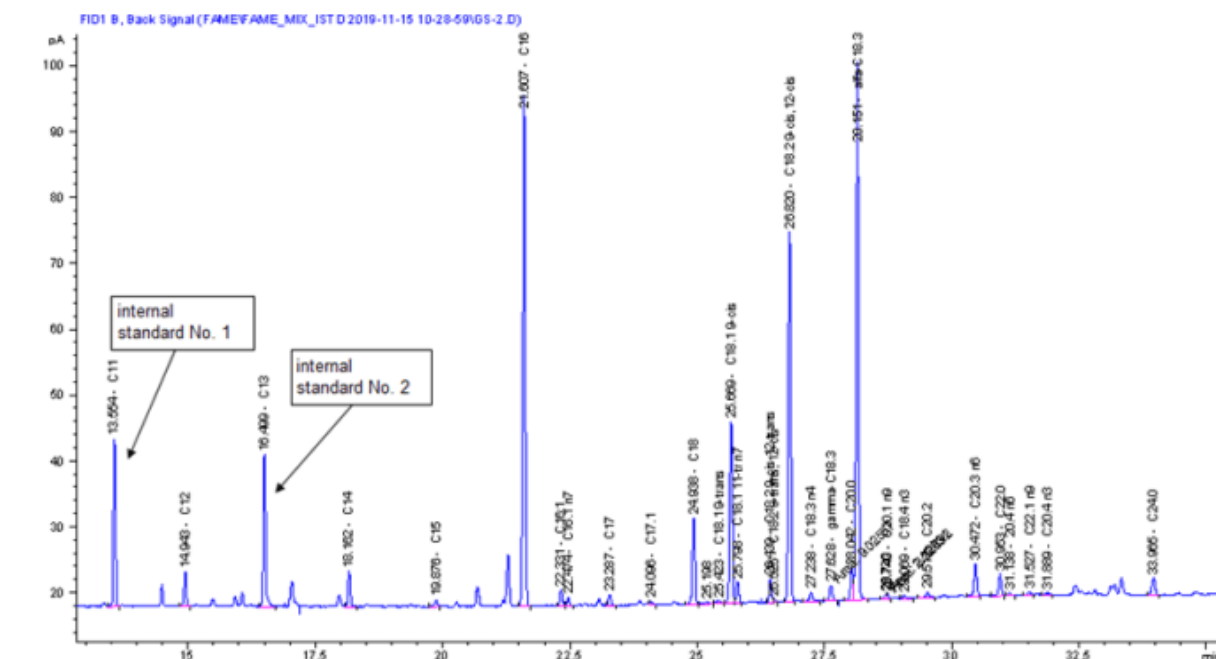


Рисунок 39 – Хроматографический профиль жирных кислот в составе сбора

Результаты исследования жирнокислотного состава ГС №2 представлены в Таблице 20.

Таблица 20 – Идентифицированные жирные кислоты и их содержание в грудном сборе №2

Наименование жирной кислоты	Индекс насыщения	Содержание, %
<i>Насыщенные жирные кислоты</i>		
лауриновая	12:0	1,51
миристиновая	14:0	1,66
пентадециловая	15:0	0,35
пальмитиновая	16:0	24,81
маргариновая	17:0	0,56
стеариновая	18:0	4,40
арахидиновая	20:0	1,71
бегеновая	22:0	1,18
лигноцериновая	24:0	1,14
Общее содержание насыщенных жирных кислот		37,32
<i>Ненасыщенные жирные кислоты</i>		
гексадеценовая	16:1	0,80
пальмитолеиновая	16:1 9- <i>cis</i>	0,43
гептадеценовая	17:1	0,23
элаидиновая	18:1 9- <i>транс</i>	0,40
олеиновая	18:1 9- <i>цис</i>	9,15
вакценовая	18:1 11- <i>транс</i>	1,01
<i>цис, транс</i> -линолевая	18:2 9- <i>цис</i> , 12- <i>транс</i>	1,17

Продолжение Таблицы 20

<i>транс, цис</i> - линолевая	18:2 9- <i>транс</i> , 12- <i>цис</i>	0,12
линолевая	18:2 [129]	18,39
γ - линоленовая	18:3 ω -6 6ц,9ц,12ц	0,87
α - линоленовая	18:3 ω -3 9ц,12ц,15ц	26,86
гондоевая	20:1	0,42
эйкозодиеновая	20:2	0,43
эйкозатриен п6	20:3 8,11,14- <i>цис</i>	1,82
арахидоновая	20:4 п6	0,16
Общее содержание ненасыщенных жирных кислот		62,26

Таким образом, было идентифицировано 24 жирные кислоты с преобладанием ненасыщенных (62,26 %) над насыщенными (37,32 %). Наиболее превалирующими оказались пальмитиновая кислота (24,81 %), линолевая кислота (18,39 %) и α -линоленовая кислота (26,86 %), что подтверждается литературными данными.

4.11. Определение компонентного состава летучей фракции

Проведенная идентификация летучих веществ в образце ГС №2 показала, что их общее количество достигает 91. Таблица 21 содержит информацию о качественном и количественном составе данной фракции.

Таблица 21 – Компонентный состав летучей фракции сбора

Время удерживания	Наименование соединения	CAS	Содержание компонентов в смеси, %
8,082	Изопрен	78-79-5	0,017
14,216	Масляный альдегид	123-72-8	0,023
14,436	Метакриальдегид	78-85-3	0,252
15,176	Бутанон	78-93-3	0,033
15,859	Изовалериановый альдегид	590-86-3	0,538
16,426	Нон-1-ен	124-11-8	0,299
17,92	1,3-циклопентадиен, 5-(1,1-диметилэтил)-	35059-40-6	0,065
18,499	Валеральдегид	97 110-62-3	0,568
19,634	Метилпентанон	108-10-1	0,035
20,185	α -пин-2(10) - ен	80-56-8	0,416
22,037	Камфен	79-92-5	0,072

Продолжение Таблицы 21

22,785	Капроновый альдегид	66-25-1	5,653
23,813	β -пин-2(3)-ен	80-56-8	0,089
23,981	Изогексано́л	626-89-1	0,055
24,299	Туйон	1125-12-8	0,123
25,009	Пент-4-енал	2100-17-6	0,171
25,822	Мирцен	123-35-3	0,143
26,174	Фелландрен	99-83-2	0,336
26,884	Метил н-амил кетон	110-43-0	0,443
27,012	Гептанальдегид	111-71-7	0,287
27,591	Лимонен	138-86-3	1,176
27,809	Метил кротоновый альдегид	107-86-8	0,141
28,065	Цинеол	406-67-7	1,187
28,543	Гексенал	6728-26-3	1,213
28,657	Амилфуран	3777-69-3	0,287
29,408	1,4-терпинен	99-85-4	0,323
29,636	3-октанон	106-68-3	0,169
30,463	4-изопропилметилбензол	99-87-6	1,901
30,79	Метилгексилкетон	111-13-7	0,088
30,969	Каприловый альдегид	124-13-0	0,111
31,048	1,2,4-триметилбензол	95-63-6	0,103
31,46	Изогептиловый спирт	51774-11-9	0,680
31,881	3- метиламиловый спирт	123-51-3	0,117
32,504	Транс-гептеналь	18829-55-5	0,880
32,753	1-гексано́л	111-27-3	3,368
33,211	1,2,3-триметилбензол	526-73-8	0,083
34,034	Цис-гекс-3-ениловый спирт	31501-11-8	2,748
34,322	Метилкаприлат	111-11-5	0,017
34,48	Метил-гептилкетон	821-55-6	0,061
35,238	3-октен-2-он	1669-44-9	0,791
35,435	Фенхон	1195-79-5	0,473
36,021	Изо-октенил алкоголь	26952-21-6	5,850
36,235	α - туйон	546-80-5	2,347
36,879	β - туйон	471-15-8	1,795
37,512	Тетраметилпиразин	1124-11-4	0,088
37,669	Изоментон	36977-92-1	7,561
38,139	(S)-3-этил-4-метилпентанол-1	38514-13-5	1,614
38,623	Ментанон	14073-97-3	2,965
39,027	3,5-октадиен-2-он	30086-02-3	0,682
39,187	Линалоол	78-70-6	2,526
39,354	Укропный эфир	74410-10-9	0,358
39,541	1-октано́л	111-87-5	0,446
39,696	Бензальдегид	100-52-7	2,701
40,734	Октадиенон	3710-30-3	0,482
41,23	Неоизоментол	491-02-1	0,619
41,639	1-терпинен-4-ол	562-74-3	1,174
42,179	Цис-4-(изопропил)-1-метилциклогекс-2-ен-1-ол	619-62-5	0,081
42,314	Дигидрокарвон	5524-05-0	1,023
42,519	Ментол	2216-51-5	1,431

Продолжение Таблицы 21

42,936	Дигидрокарвон	5524-05-0	0,461
43,53	Пулегон	89-82-7	2,544
43,848	Эстрагол	140-67-0	1,104
44,291	α - терпинеол	98-55-5	0,444
45,111	П-мент-4-ен-3-он	15932-80-6	0,266
46,064	Карвон	6485-40-1	23,439
46,376	δ - кадинен	483-76-1	0,141
46,872	Нерол	106-25-2	0,101
47,157	Миртенол	515-00-4	0,117
47,352	Метил салицилат	119-36-8	0,291
47,435	Тминовый альдегид	122-03-2	0,255
47,783	Декадиенальдегид	25152-84-5	0,033
48,04	Гераниол	106-24-1	0,202
48,222	β - дамасценон	23696-85-7	0,048
48,355	Анетол	26795-32-4	4,388
48,48	п-цимен	99-87-6	0,152
48,61	5,9-ундекадиен-2-он, 6,10- диметил-	3796-70-1	0,272
48,834	Капроновая кислота	142-62-1	1,253
49,149	Метоксифенол	150-76-5	0,195
49,43	Бензиловый спирт	100-51-6	0,354
50,438	Фенилэтиловый спирт	60-12-8	0,468
51,04	α - калакорен	21391-99-1	0,317
51,377	β - ионон	79-77-6	0,535
53,181	Кариофиллен эпоксид	1139-30-6	0,910
54,12	Анисовый альдегид	123-11-5	0,430
54,538	Каприловая кислота	124-07-2	0,413
56,626	Спатуленол	6750-60-3	0,331
57,805	Тимол	89-83-8	0,439
59,046	Карвакрол	499-75-2	0,256
62,363	2,4-ди-трет-бутилфенол	96-76-4 [124]	0,181
66,745	Диэтил фталат	84-66-2	0,113
67,732	Дигидроактинидиолид	17092-92-1	0,265

Компонентный состав летучей фракции ГС № 2 в наибольшем количестве представлен карвоном (23,439%), изоментоном (7,561%), изооктениловым спиртом (5,850%), анетолом (4,388%), гексиловым спиртом (3,368%), ментаноном (2,965%), цис-гекс-3-ениловым спиртом (2,748%), бензальдегидом (2,701%), пулегоном (2,544%), линалоолом (2,526%), α -туйоном (2,347%). Гексановая кислота, анетол, эстрагол, карвакрол, 1,8-цинеол, бензальдегид, тимол, октаналь, гексанол, пара-цимен-8-ол, α -терпинеол, гексановая кислота, пулегон, которые, согласно литературным данным, были идентифицированы в корнях солодки. Такие

соединения как спатуленол, α -фелландрен и гептаналь согласно литературным данным обнаружены в листьях мать-и-мачехи обыкновенной. Гексановая кислота, анетол, эстрагол, карвакрол, 1,8-цинеол, бензальдегид, тимол, октаналь, гексанол, пара-цимен-8-ол, α -терпинеол, пулегон, спатуленол, α -фелландрен, гептаналь могут рассматриваться в качестве маркерных соединений для ГС №2.

4.12. Исследование элементного состава

Элементный анализ позволил обнаружить 26 химических элементов в исследуемых образцах – грудном сборе №2 и отдельных видах сырья, входящих в его состав. Данные количественного определения сведены в Таблицу 22.

Таблица 22 – Содержание элементов в сборе и его компонентах

Элемент	Содержание ($\bar{x} \pm \Delta x$ при $n=3$), мг/кг			
	мать-и-мачехи обыкновенной листья	подорожника большого листа	солодки корни	грудной сбор № 2
K	2794,17 $\pm$ 110,33	1802,58 $\pm$ 9,11	1111,90 $\pm$ 6,32	2243,00 $\pm$ 22,38
Ca	1219,52 $\pm$ 74,45	791,82 $\pm$ 66,36	391,32 $\pm$ 1,04	885,03 $\pm$ 17,89
Mg	194,37 $\pm$ 12,73	131,58 $\pm$ 14,59	156,78 $\pm$ 5,74	158,59 $\pm$ 2,92
Na	7,34 $\pm$ 0,24	2,71 $\pm$ 0,09	17,62 $\pm$ 0,13	18,88 $\pm$ 1,23
Al	24,82 $\pm$ 2,97	25,93 $\pm$ 5,35	5,71 $\pm$ 2,3	14,75 $\pm$ 1,82
B	1,19 $\pm$ 0,08	0,74 $\pm$ 0,16	0,88 $\pm$ 0,05	1,01 $\pm$ 0,07
Cu	0,29 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,009	0,29 $\pm$ 0,01
Fe	28,11 $\pm$ 0,83	15,39 $\pm$ 0,21	4,81 $\pm$ 0,11	18,03 $\pm$ 0,34
Mn	2,03 $\pm$ 0,10	1,42 $\pm$ 0,16	0,58 $\pm$ 0,01	1,62 $\pm$ 0,18
Sr	4,82 $\pm$ 0,14	3,21 $\pm$ 0,12	28,87 $\pm$ 0,48	11,71 $\pm$ 0,03
Zn	0,90 $\pm$ 0,03	0,92 $\pm$ 0,03	0,26 $\pm$ 0,008	0,87 $\pm$ 0,02
Ag	0,01 $\pm$ 0,001	0,07 $\pm$ 0,001	<0,001	0,001 $\pm$ 0,0001
Ba	0,69 $\pm$ 0,016	2,68 $\pm$ 0,074	0,32 $\pm$ 0,032	1,29 $\pm$ 0,021
Co	0,04 $\pm$ 0,002	0,01 $\pm$ 0,002	0,01 $\pm$ 0,006	0,03 $\pm$ 0,001
Cr	0,22 $\pm$ 0,032	0,04 $\pm$ 0,009	0,03 $\pm$ 0,002	0,11 $\pm$ 0,014
Ga	0,01 $\pm$ 0,001	0,01 $\pm$ 0,001	0,001 $\pm$ 0,0007	0,004 $\pm$ 0,001
Li	0,09 $\pm$ 0,005	0,05 $\pm$ 0,009	0,04 $\pm$ 0,003	0,06 $\pm$ 0,004
Mo	0,05 $\pm$ 0,001	0,01 $\pm$ 0,002	0,05 $\pm$ 0,002	0,06 $\pm$ 0,005
Ni	0,08 $\pm$ 0,031	0,30 $\pm$ 0,022	0,05 $\pm$ 0,0025	0,18 $\pm$ 0,08
Se	0,08 $\pm$ 0,01	<0,001	<0,001	0,05 $\pm$ 0,01
Pd	0,01 $\pm$ 0,004	0,02 $\pm$ 0,001	0,03 $\pm$ 0,001	0,01 $\pm$ 0,006
V	0,06 $\pm$ 0,005	0,03 $\pm$ 0,002	0,03 $\pm$ 0,002	0,04 $\pm$ 0,003
As	0,01 $\pm$ 0,009	0,01 $\pm$ 0,006	0,01 $\pm$ 0,002	0,01 $\pm$ 0,009

Продолжение Таблицы 22

Cd	0,01±0,0006	0,004±0,0006	<0,001	0,003±0,0003
Hg	<0,001	<0,001	<0,001	0,001
Pb	0,01±0,0004	0,01±0,0004	0,003±0,0003	0,01±0,0006

Полученные результаты показали, что ГС № 2 имеет богатый элементный состав. Макроэлементами с наибольшим содержанием являются калий, кальций и магний. Следует отметить, что препараты с высоким содержанием магния могут благоприятно влиять на состояние пациентов с респираторными заболеваниями, сопровождающимися спазмом мышц дыхательных органов, например, при бронхитах [144].

Во всех исследуемых объектах преобладающим элементом был калий, однако стоит отметить высокое содержание кальция в мать-и-мачехи обыкновенной листьях. В корнях солодки найденное содержание калия, кальция, магния, натрия, алюминия, меди, железа, марганца, стронция, цинка, кобальта, хрома, никеля было значительно ниже, чем значения, указанные в литературе [52, 54, 55]. Также и для мать-и-мачехи обыкновенной листьев диапазоны концентраций калия, кальция, магния, натрия, алюминия, меди, железа, марганца, стронция, цинка, кобальта, хрома, никеля, указанные в литературе [49, 50] значительно превышали полученные в эксперименте результаты анализа. Содержание никеля в листьях подорожника большого было выше значения, указанного в литературе (0,03 мг/кг), при значительно меньшем содержании остальных элементов [38, 51]. Такие расхождения с литературными данными могут быть объяснены почвенными, географическими, климатическими особенностями региона заготовки ЛРС.

На масс-спектрах исследуемых образцов идентифицированы тяжёлые металлы и мышьяк (Рисунок 40).

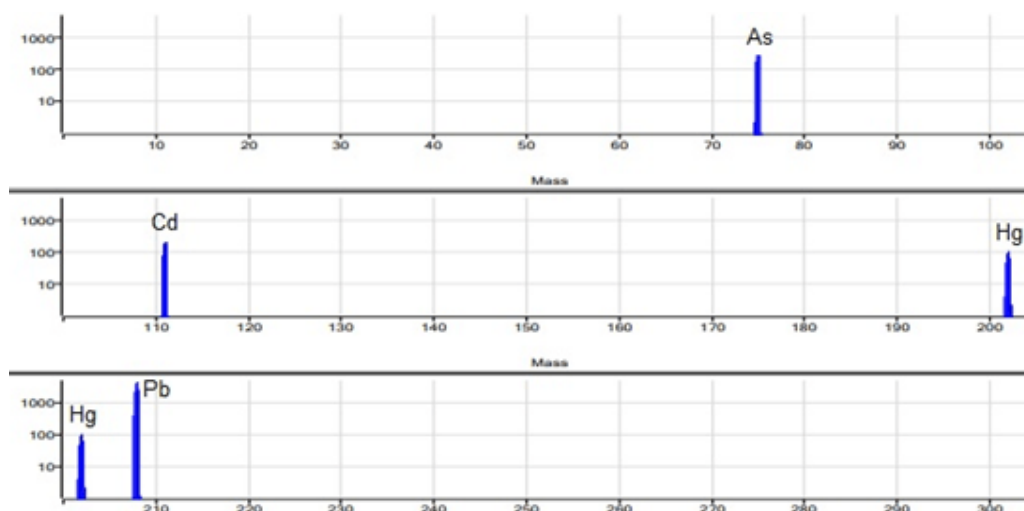


Рисунок 40 – Масс-спектры грудного сбора №2

Содержание тяжёлых металлов и мышьяка во всех образцах не превышало норм содержания согласно ГФ РФ XV. Наиболее экологически чистыми были солодки корни.

На основании полученных данных составлены ряды элементов по убыванию их содержания в ЛРП. Систематизированные результаты представлены ниже в Таблице 23.

Таблица 23 – Ряды распределения элементов по убыванию их содержания в составе ЛРП

Мать-и-мачехи обыкновенной листья	Подорожника большого листья	Солодки корни	Грудной сбор № 2
<i>Макроэлементы</i>			
K > Ca > Mg > Na	K > Ca > Mg > Na	K > Ca > Mg > Na	K > Ca > Mg > Na
<i>Микроэлементы</i>			
Fe > Al > Sr > Mn > B > Zn > Cu	Al > Fe > Sr > Mn > Zn > B > Cu	Sr > Al > Fe > B > Mn > Zn > Cu	Fe > Al > Sr > Mn > B > Zn > Cu
<i>Ультрамикроэлементы</i>			
Ba > Cr > Li > Ni > Se > V > Mo > Co > Ag > Ga > Pd	Ba > Ni > Ag > Li > Cr > V > Co > Mo > Ga > Pd > Se	Ba > Mo > Ni > Li > Pd > V > Cr > Co > Ga > Ag > Se	Ba > Ni > Cr > Mo > Li > Se > V > Co > Pd > Ga > Ag

Убывающие последовательности макроэлементов совпадали как в ГС №2, так и в его компонентах. Ряды накопления макроэлементов для мать-и-мачехи

обыкновенной листьев и солодки корней подтверждаются данными литературы [49, 55].

Ряды накопления микроэлементов и ультрамикроэлементов варьировали у разных объектов в зависимости от вида производящего растения, морфологической группы ЛРС, вклада ЛРС в содержание элементов в ГС № 2. В частности, алюминий в наибольшей степени накапливался в листьях подорожника большого, железо – в мать-и-мачехи обыкновенной листьях и ГС № 2, стронций – в солодки корнях. Исходя из полученных данных, замыкающим элементом рядов накопления во всех объектах является медь. В корнях солодки бор представлен в большем количестве относительно марганца. Противоположная последовательность наблюдается в остальных объектах исследования. Подорожника большого листья в отличие от остальных объектов накапливают больше цинка, чем бора.

Наибольшей вариативности достигали ряды накопления ультрамикроэлементов. Во всех объектах выявлена закономерность, заключающаяся в наиболее высокой степени накопления бария относительно других ультрамикроэлементов. В подорожника большого листьях в большей степени относительно других элементов накапливается серебро, в мать-и-мачехи обыкновенной листьях – селен. Место палладия в ряду накопления ультрамикроэлементов солодки корней значительно выше, чем у остальных объектов.

Наиболее богаты калием, кальцием и магнием мать-и-мачехи обыкновенной листья. Следовательно, наибольший вклад в содержание данных элементов в сборе вносит именно этот компонент. Высокое относительно других компонентов сбора содержание калия и кальция подтверждается данными, приведёнными в литературе [39, 54, 55]. Содержание натрия в компонентах сбора в 7-1030 раз ниже относительно содержания других макроэлементов (Рисунок 41).

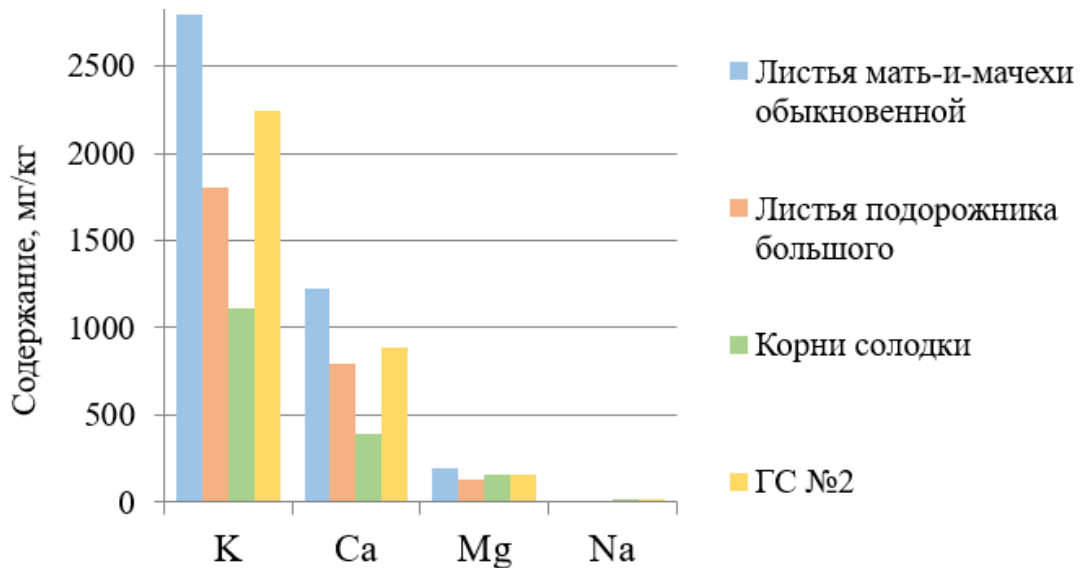


Рисунок 41 – Содержание макроэлементов в грудном сборе № 2 и его компонентах

При исследовании микроэлементного состава компонентов сбора было обнаружено высокое содержания алюминия в мать-и-мачехи обыкновенной листьях и подорожника большого листьях, железа в мать-и-мачехи обыкновенной листьях и стронция в солодки корнях. В настоящее время не существует нормативной документации, регламентирующей значения показателей этих элементов в ЛРС. Согласно методическим рекомендациям Роспотребнадзора суточная физиологическая потребность в железе составляет 10-18 мг/сут. Таким образом, содержание железа в исследуемых ЛРП с учётом особенностей способа их применения и дозы, указанных в инструкции по медицинскому применению, не превышает суточной нормы. Наибольшее содержание микроэлементов бора и марганца обнаружено в мать-и-мачехи обыкновенной листьях. Подорожника большого листья вносят наибольший вклад в содержание цинка в ГС №2. Построена диаграмма содержания микроэлементов объектов исследования (Рисунок 42).

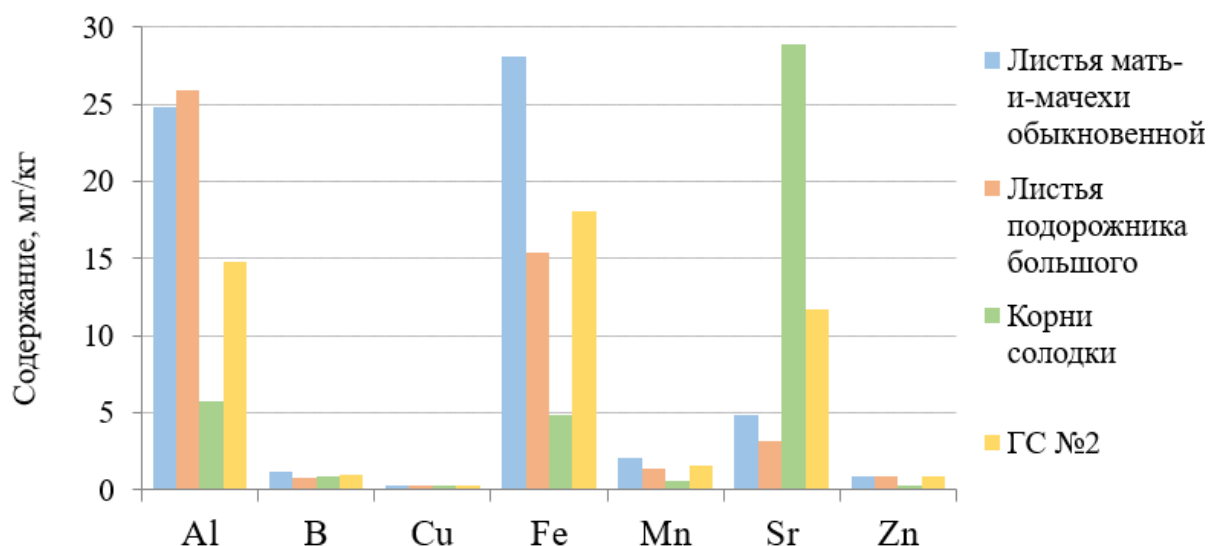


Рисунок 42 – Микроэлементный состав сбора и входящего в него ЛРС

Концентрация ультрамикроэлемента бария в исследуемых ЛРП в несколько раз превышает концентрации остальных ультрамикроэлементов, достигая наибольшего содержания в подорожника большого листьях (2,68 мг/кг). Кроме того, листья подорожника обладают преобладающим содержанием серебра и никеля относительно других компонентов. Молибден в наибольшем количестве обнаружен в солодки корнях. Наибольшее содержание остальных ультрамикроэлементов обнаружено в мать-и-мачехи обыкновенной листьях (Рисунок 43). Богатый элементный состав ГС № 2 обусловлен, в основном, элементным составом мать-и-мачехи обыкновенной листьев.

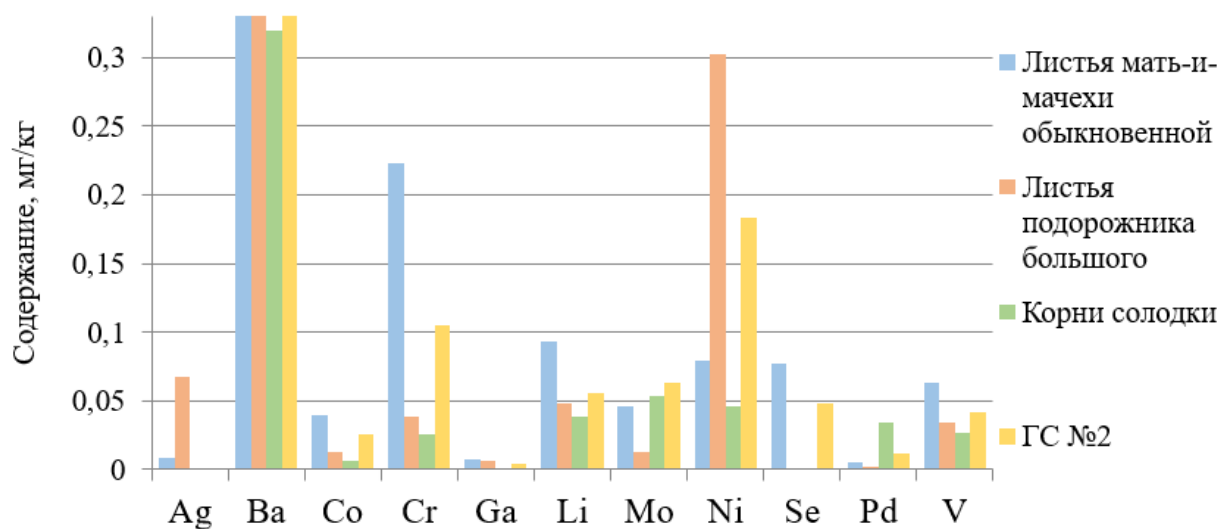


Рисунок 43 – Состав ультрамикроэлементов сбора и входящего в него ЛРС

Ранее было установлено, что совокупность таких факторов, как фаза развития растения, морфологическая группа ЛРС, условия произрастания производящих растений, обуславливает вариативность содержания как макро-, так и микроэлементов [144, 145]. Возникает необходимость определить зависимость содержания элементов от вида растения и его морфологической группы в исследуемых образцах. Данные о вкладе каждого из компонентов в суммарное содержание элементов в ГС № 2 представлены в Таблице 24.

Таблица 24 – Вклад каждого из компонентов сбора в содержание элементов в грудном сборе № 2 с учётом заявленного состава сбора

Элемент	Содержание элемента, мг/кг		
	мать-и-мачехи обыкновенной листья (40 %)	подорожника большого листья (30 %)	солодки корни (30 %)
<i>Макроэлементы</i>			
K	1117,67	540,77	333,57
Ca	487,81	237,55	117,40
Mg	77,75	39,47	47,03
Na	2,94	0,81	5,29
<i>Микроэлементы</i>			
Al	9,93	7,78	1,71
B	0,48	0,22	0,26
Cu	0,11	0,09	0,08
Fe	11,24	4,62	1,44
Mn	0,81	0,43	0,17
Sr	1,93	0,96	8,66
Zn	0,36	0,28	0,08
<i>Ультрамикроэлементы</i>			
Ag	0,003	0,02	<0,001
Ba	0,28	0,80	0,10
Co	0,02	0,004	0,002
Cr	0,09	0,01	0,0078
Ga	0,003	0,002	<0,001
Li	0,04	0,01	0,01
Mo	0,02	0,004	0,02
Ni	0,03	0,09	0,01
Se	0,03	<0,001	<0,001
Pd	0,002	0,001	0,01
V	0,03	0,01	0,01

Наибольшим вкладом относительно других компонентов в содержание калия, кальция, магния, алюминия, бора, меди, железа, марганца, цинка, кобальта, хрома, галлия, лития, молибдена, селена, ванадия в сборе обладают мать-и-мачехи листья обыкновенной; серебра, бария, никеля – подорожника большого листья; натрия, стронция, палладия – солодки корни.

В состав ГС № 2 входит ЛРС двух морфологических групп (листья и корни). Концентрация в подземных органах таких элементов как кальций, алюминий, железо, цинк, марганец, алюминий, цинк, серебро, барий, кобальт хром, галлий, селен, ванадий в несколько раз ниже концентрации этих элементов в листьях.

Фармакологическое действие ГС №2 и его водного извлечения формируется за счёт синергетического взаимодействия биологически активных веществ, содержащихся в различных компонентах сбора. Как свидетельствуют данные Таблицы 25, основные группы БАС в достаточном объёме экстрагируются в водное извлечение (настой).

Таблица 25 – Основные группы БАС в ГС №2 и его настоях

Биологически активные соединения	Содержание, %		
	Сбор	Настой 1	Настой 2
Полисахариды	9,34 %	1,01 %	3,38 %
Полисахариды и свободные сахара	12,10 %	1,35 %	5,40 %
Глицирризиновая кислота	4,67 %	0,44 %	1,66 %
Флавоноиды	1,64 %	0,22 %	0,56 %
Дубильные вещества	3,49 %	0,41 %	1,85 %
Восстанавливающие сахара в составе полисахаридов	7,74 %	0,85%	2,61 %
Глицирризиновая кислота	6,34 %	0,72 %	2,04 %
Аминокислоты	30,62 мг/г	40,67 мг/100 мл	258,82 мг/100 мл
Примечание: сведения о содержании восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов приведены в следующих главах настоящей работы			

4.13. Выводы к главе 4

1. С помощью качественных реакций, методов ТСХ, УЭЖХ-УФ-МС/МС идентифицированы основные классы БАС: ПСХ, простые сахара, уруновые кислоты, флавоноиды, дубильные вещества, сапонины, ГКК. Выявлены отдельные соединения у некоторых из этих классов.

2. Проведено определение содержания ПСХ (от $9,05 \pm 0,15$ % до $9,55 \pm 0,40$ % для ЛРС ГС №2; от $0,90 \pm 0,06$ % до $3,54 \pm 0,26$ % для настоя ГС №2); суммы полисахаридов и свободных сахаров в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырье (от $11,75 \pm 0,48$ % до $12,40 \pm 0,84$ % для ЛРС ГС №2; от $1,24 \pm 0,09$ % до $5,68 \pm 0,31$ % для настоя ГС №2); суммы флавоноидов в пересчёте на рутин (от $1,54 \pm 0,06$ до $1,73 \pm 0,10$ % для ЛРС ГС №2; от $0,18 \pm 0,01$ % до $0,60 \pm 0,02$ % – для настоя ГС №2); глицирризиновой кислоты в абсолютно сухом сырье (от $4,58 \pm 0,15$ % до $4,81 \pm 0,21$ % для ЛРС ГС №2; от $0,36 \pm 0,03$ % до $1,80 \pm 0,09$ % – для настоя ГС №2); суммы дубильных веществ в пересчёте на танин (от $3,41 \pm 0,06$ % до $3,59 \pm 0,08$ % – для ЛРС ГС №2, от $0,38 \pm 0,02$ % до $1,89 \pm 0,04$ % – для настоя ГС №2) в ГС №2 и его настоях. Выполнена оценка вклада каждого компонента сбора в содержание исследуемой группы БАС или индивидуального соединения.

3. В составе летучих органических веществ ГС №2 преобладают карвон, изоментон, изооктениловый спирт, анетол, гексиловый спирт, ментанон, цис-гекс-3-ениловый спирт, бензальдегид, пулегон, линалоол и α -туйон. Элементный профиль образца выстроен вокруг К, Са, Mg (макроэлементы), Fe, Al, Sr (микроэлементы) и Ba, Ni, Cr (ультрамикроэлементы). Концентрации Hg, Pb, Cd, As укладываются в установленные фармакопеей значения. Среди аминокислот доминируют пролин, аспарагиновая кислота, аланин и тирозин. Основу жирнокислотного состава составляют ненасыщенные кислоты, а самые высокие концентрации сконцентрированы в пальмитиновой, линолевой и α -линоленовой.

4. Установлен процент перехода в настой ПСХ – 27,14 %, суммы полисахаридов и свободных сахаров – 31,43 %, ГК – 24,93 %, флавоноидов – 24,98 %, дубильных веществ – 33,67 %. Отмечен более высокий процент перехода

в водное извлечение 2 относительно водного извлечения 1. Таким образом, в процессе экстракции в водное извлечение из сбора переходят основные группы БАС, определяющие его эффект.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Фармакологические свойства ГС №2 обусловлены действием полисахаридов, относящихся к основным классам БАС. Благодаря хорошей растворимости в горячей воде, они эффективно экстрагируются при приготовлении настоя – основной лекарственной формы. ГМ метод количественной оценки ПСХ, применяемый в настоящее время, достаточно трудоёмок. А методом определения ЭВв невозможно установить содержание отдельной группы соединений. Для преодоления этих методических ограничений нами разработан спектрофотометрический способ анализа, который обеспечивает количественную оценку восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов.

Максимум светопоглощения комплексов сахаров ГС №2 и СО Glc с антрон-сернистым реактивом (АСР) регистрируется при 627 ± 2 нм (Рисунок 44).

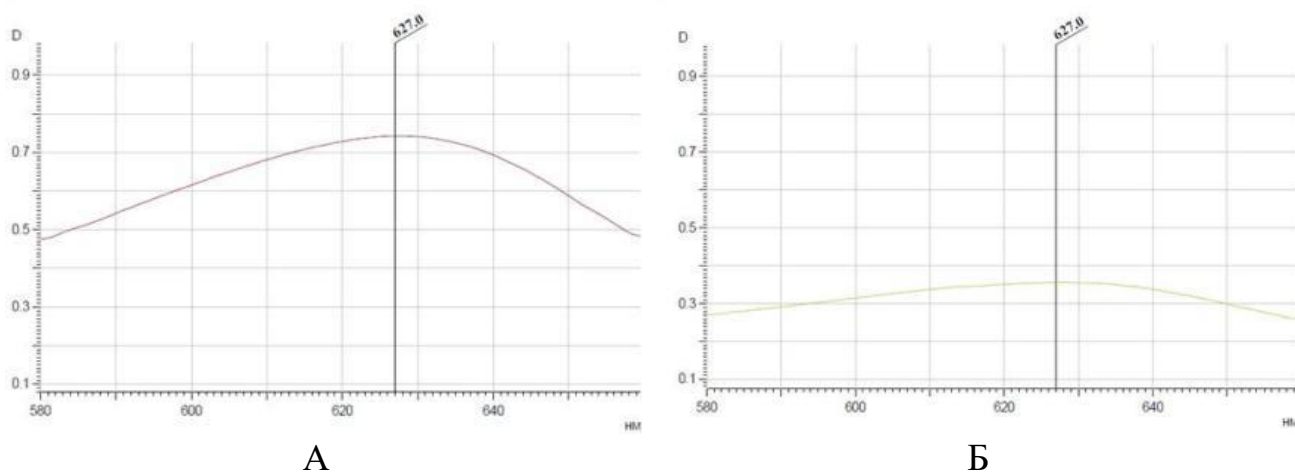


Рисунок 44 – Сравнительная характеристика спектров: анализируемый образец ГС №2 (А) и СО Glc (Б) с АСР ($\lambda=627 \pm 2$ нм)

С целью определения времени максимального развития окраски и оценки устойчивости образующихся комплексов проводили мониторинг изменения оптической плотности испытуемых растворов в течение 40 минут после введения антрон-сернистого реагента. В результате эксперимента установлено, что

интенсивность окраски достигает своего пика спустя 20 минут и остаётся стабильной на протяжении всего дальнейшего периода наблюдения.

Экспериментальным путём определены параметры, обеспечивающие наибольшую стабильность аналитического сигнала. Установлено, что в качестве комплексообразующего агента следует применять антрон-сернистый реактив при объёмном соотношении пробы и реагента, равном 1:2 (Таблица 26).

Таблица 26 – Результаты определения содержания восстанавливающих сахаров при различных соотношениях извлечения и комплексообразователя

№ п/п	Соотношение извлечения и комплексообразователя	Содержание сахаров, %
1	1:0,5	4,81
2	1:1	5,30
3	1:1,5	5,86
4	1:2	6,08
5	1:2,5	5,95

Одним из основных БАС корней солодки, как одного из компонентов ГС №2, является глицирризиновая кислота, которая обуславливает фармакологический эффект сбора.

Наиболее распространённым методом количественного определения глицирризиновой кислоты, включённым в ФС.2.5.0040.15 ГФ XIV изд. «Солодки корни» является дифференциальная УФ-спектрофотометрия [109].

С целью нормирования содержания действующих веществ в проекте ФС обоснована и валидирована методика количественного анализа ГК в ГС №2, реализованная методом СФМ.

Аналитический сигнал испытуемого раствора ГС №2 характеризуется максимумом поглощения при 258 ± 2 нм, что совпадает с положением максимума стандартного образца 18β-глицирризиновой кислоты (Рисунок 45).

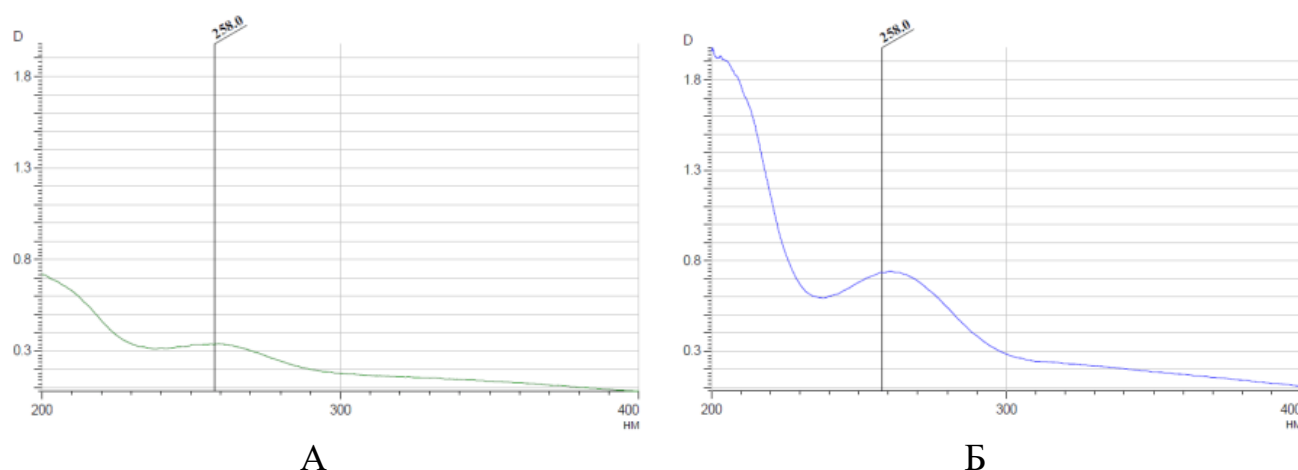


Рисунок 45 – Сравнительная характеристика УФ-спектров: анализируемый образец ГС №2 (А) и СО 18 β -глицирризиновой кислоты (Б) с максимумом поглощения при 258 $\pm$ 2 нм

5.1. Пробоподготовка образцов для анализа

Изыскание оптимальных параметров экстракции для ГС №2 включало исследование влияния четырёх факторов на полноту выхода восстанавливающих сахаров: степени измельчённости сырья, кратности экстрагирования, соотношения сырья и экстрагента и оптимального времени экстракции (Таблицы 28-34).

Для определения оптимального размера частиц анализировали фракции сырья, прошедшие сквозь сита 0,5–3 мм. Данные, представленные в Таблице 27, свидетельствуют о том, что наиболее полное извлечение сахаров обеспечивает помол до 2 мм.

Таблица 27 – Эффективность экстракции сахаров при различной степени измельчения сырья

№ п/п	Размер частиц, мм	Содержание сахаров, %
1	0,5	4,92
2	1	5,87
3	2	6,23
4	3	5,47

Показано, что наиболее полное извлечение полисахаридов достигается при трёхкратной экстракции дистиллированной водой (Таблица 28).

Таблица 28 – Влияние кратности экстракции на извлечение полисахаридов из ГС №2

№ п/п	Кратность экстракции	Содержание сахаров, %
1	1	4,77
2	2	5,18
3	3	6,44
4	4	6,01

Оптимальным соотношением массы сырья к объёму экстрагента, обеспечивающим наиболее полное извлечение полисахаридов, является 1:50 (Таблица 29).

Таблица 29 – Содержание сахаров в извлечениях ГС №2 в зависимости от соотношения сырье-экстрагент

№ п/п	Соотношение массы сырья к объёму экстрагента	Содержание сахаров, %
1	1:25	6,09
2	1:50	6,21
3	1:100	4,66
4	1:250	3,52

Оптимальное время экстракции составило 30 минут (Рисунок 46).

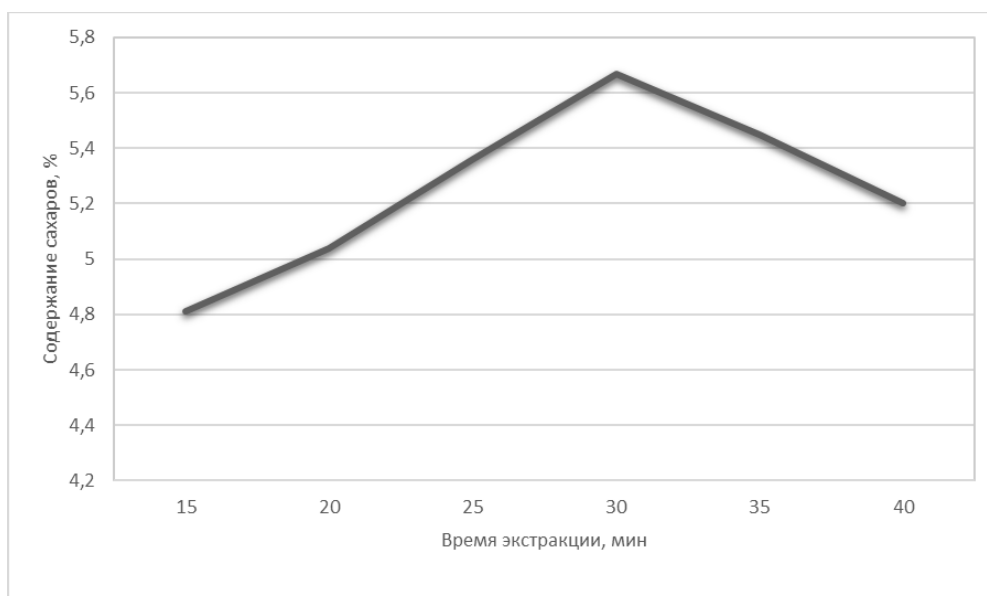


Рисунок 46 – Влияние времени экстракции на содержание восстанавливающих сахаров в извлечении ГС №2

При установлении содержания глицирризиновой кислоты 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.

Исследование влияния размеров частиц сырья на эффективность экстракции проводили на фракциях, полученных путём просеивания через сита (размер отверстий 0,2; 0,5; 0,8 и 1 мм). Установлено, что наибольший выход глицирризиновой кислоты обеспечивает использование частиц размером 0,5 мм (фракция, проходящая сквозь сито с отверстиями 0,5 мм). Соответствующие данные представлены в Таблице 30.

Таблица 30 – Содержание глицирризиновой кислоты в извлечениях из ГС №2 в зависимости от размера частиц сырья

№ п/п	Размер частиц сырья, мм	Содержание глицирризиновой кислоты, %
1	0,2	5,01
2	0,5	5,23
3	0,8	4,55
4	1	3,77

Наиболее оптимальное влияние на выход глицирризиновой кислоты наблюдается при соотношении сырьё-экстрагент 1:50 (Таблица 31).

Таблица 31 – Влияние степени измельчённости ЛРС на выход глицирризиновой кислоты ГС №2

№ п/п	Кратность экстракции	Содержание глицирризиновой кислоты, %
1	1:200	2,55
2	1:100	4,14
3	1:50	5,43
4	1:40	5,11

Показано, что наиболее полное извлечение глицирризиновой кислоты достигается при трёхкратной экстракции горячим ацетоном (Таблица 32).

Таблица 32 – Влияние кратности экстракции горячим ацетоном на эффективность выхода глицирризиновой кислоты из ГС №2

№ п/п	Кратность экстракции	Содержание глицирризиновой кислоты, %
1	Однократная (по 5 минут)	3,01
2	Двукратная (по 5 минут)	4,14
3	Трёхкратная (по 5 минут)	5,28
4	Четырёхкратная (по 5 минут)	5,02

Согласно данным, представленным в Таблице 33, наиболее эффективной является экстракция глицирризиновой кислоты горячим ацетоном продолжительностью 5 минут.

Таблица 33 – Содержание глицирризиновой кислоты в извлечениях из ГС №2 при различной продолжительности экстракции горячим ацетоном

№ п/п	Время экстракции, мин	Содержание глицирризиновой кислоты, %
1	2	4,08
2	5	5,36
3	10	4,99
4	15	4,33

5.2. Валидационная оценка методик количественного определения

Пригодность разработанных методик оценивали по параметрам: линейность, повторяемость, прецизионность и правильность.

5.2.1. Реагенты и стандартные образцы

- Вода дистиллированная
- Серная кислота концентрированная х.ч. (ООО «Сигма Тек», Россия)
- Ацетон х.ч. (АО «Экос-1», Россия)
- Азотная кислота ч.д.а. (ООО «Сигма Тек», Россия)
- Антрон (ООО «ЛенРеактив», Россия)
- Спирт этиловый 96% (Гатчинский спиртовый завод)
- Аммиак водный ч.д.а. (ООО «Сигма Тек», Россия)
- Стандартный образец глюкозы (Sigma-Aldrich, США)
- 18 β -глицирризиновая кислота (Sigma-Aldrich, США)

5.2.2. Расчёт содержания основных биологически активных соединений

Процент (X) восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a_1 \cdot 25 \cdot 250 \cdot (100 - W) \cdot 100},$$

- где A_1 — оптическая плотность испытуемого раствора;
 A_0 — оптическая плотность раствора стандартного образца глюкозы;
 a_1 — навеска ЛРС, г;
 a_0 — навеска СО глюкозы, г;
 W — влажность сырья, %
 P — чистота стандартного образца глюкозы, %

Содержание глицирризиновой кислоты в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 822 \cdot 250 \cdot 50 \cdot 100}{a \cdot 3 \cdot 11000 \cdot 1000} = \frac{A \cdot 3425}{a \cdot 110},$$

- где: A — оптическая плотность испытуемого раствора;
 a — навеска сырья, г;
822 — молекулярный вес глицирризиновой кислоты;
11000 — молярный показатель поглощения.

5.2.3. Приготовление растворов стандартных образцов

Стандартный образец глюкозы

Для получения 0,2 мг/мл раствора точную навеску СО глюкозы растворяют в небольшом объёме воды в колбе 250 мл, доводят до метки, перемешивают.

Стандартный образец 18β-глицирризиновой кислоты

Навеску моноаммониевой соли ГК массой около 0,002 г растворяют в 5 мл дистиллированной воды. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем до метки водой. Получают раствор концентрации 0,04 мг/мл. Стандартный раствор хранят в защищенном от света месте при температуре не выше 8 °С; срок годности – не более 3 месяцев [147].

5.2.4. Оценка метрологической пригодности методик

В процессе валидации разработанной методики была проведена оценка её метрологических характеристик. Установлено, что величина относительной погрешности единичного определения с вероятностью 95 % составляет порядка 5 %, что свидетельствует о статистической надёжности методики. Среднее содержание восстанавливающих сахаров – $6,29 \pm 0,09$ %. Результаты статистической обработки отражены в Таблице 34.

Таблица 34 – Метрологические параметры количественного анализа восстанавливающих сахаров (в составе полисахаридов) (доверительная вероятность 95 %, число повторностей – 6)

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

Проведённая статистическая обработка результатов подтвердила приемлемость методики количественного определения глицирризиновой кислоты: относительная погрешность при $P = 95$ % не превышает 5 %. Содержание глицирризиновой кислоты составило $5,26 \pm 0,04\%$. Метрологические параметры приведены в Таблице 35.

Таблица 35 – Метрологические параметры количественного анализа глицирризиновой кислоты (доверительная вероятность 95 %, число повторностей 6)

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

5.2.5. Оценка линейности методик

В ходе валидационной оценки линейности методики определения содержания восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов была установлена зависимость между величиной аналитического сигнала (оптическая плотность, y) и концентрацией глюкозы в растворе (x). Экспериментальные данные обрабатывали методом линейно-регрессионного анализа с использованием уравнения $y = b_0 + b_1x$. Меру линейности оценивали по коэффициенту корреляции (R^2). Измерения проводили для пяти уровней концентраций (33, 66, 100, 133, 166% от рабочей концентрации), каждое определение выполняли трёхкратно.

Критерием приемлемости являлся коэффициент корреляции $R^2 \geq 0,995$. Экспериментально установленное значение $R^2 = 0,9974$ подтверждает линейность методики в исследованном диапазоне (Таблица 36, Рисунок 47).

Таблица 36 – Результаты оценки линейности методики количественного определения восстанавливающих сахаров в составе ПСХ

№ измерения	Концентрация глюкозы (мкг/мл) в растворе1	Концентрация глюкозы (мкг/мл) в растворе2	Концентрация глюкозы (мг/мл) в испытуемом растворе	Содержание, % от нормируемого значения (около)	Оптическая плотность
1	60	20 [124]	0,2	33	0,1347
2	60	40	0,4	66	0,3554
3	60	60	0,6	100	0,5287
4	60	80	0,8	133	0,7420
5	60	100	1	166	0,9824

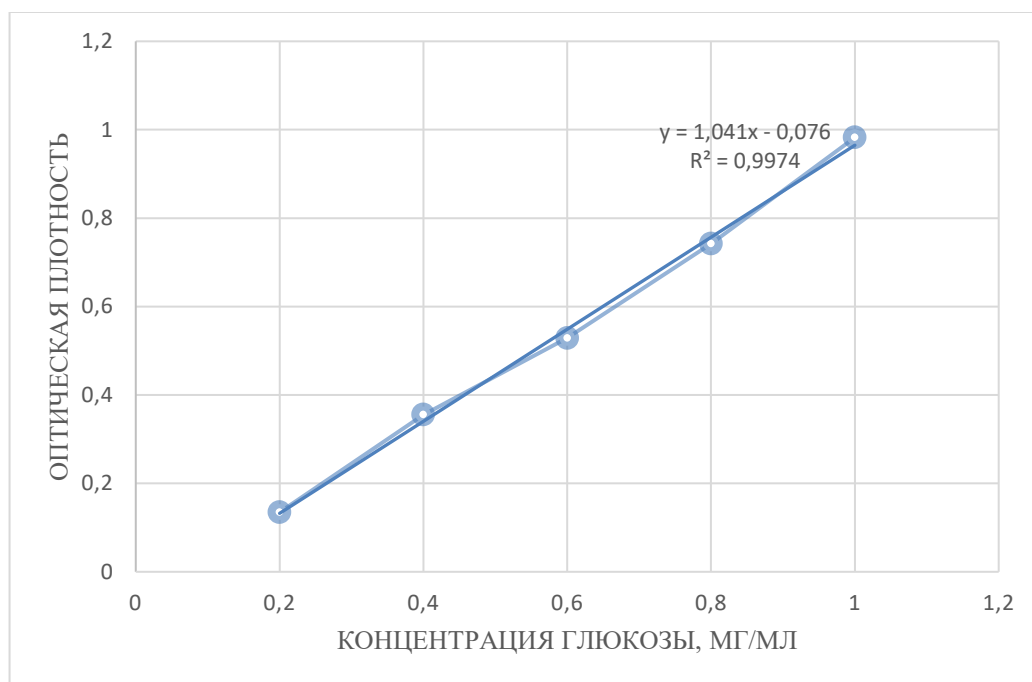


Рисунок 47 – Зависимость оптической плотности от концентрации глюкозы

Исследование линейности спектрофотометрической методики количественного анализа глицирризиновой кислоты выполняли с использованием пяти концентрационных уровней стандартного образца 18 β -глицирризиновой кислоты. Концентрации исследуемых растворов соответствовали 25, 50, 100, 150 и 200 % от номинального значения. Для каждого уровня проводили три параллельных измерения оптической плотности (A), результаты усредняли.

Линейность считали удовлетворительной при значении коэффициента корреляции $R^2 \geq 0,995$. Экспериментально установлено, что величина коэффициента корреляции составила 0,9991, что подтверждает наличие линейной зависимости в исследованном диапазоне концентраций (Таблица 37, Рисунок 48).

Таблица 37 – Результаты определения линейности методики количественного определения глицирризиновой кислоты

№ измерения	Концентрация 18 β -глицирризиновой кислоты (мг/мл) в растворе1	Концентрация 18 β -глицирризиновой кислоты (мг/мл) в растворе2	Концентрация 18 β -глицирризиновой кислоты (мг/мл) в испытуемом растворе	Содержание, % от нормируемого значения (около)	Оптическая плотность [124]
1	4,8	0,1	0,01	25	0,1996

Продолжение Таблицы 37

2	4,8	0,2	0,02	50	0,3436
3	4,8	0,4	0,04	100	0,7056
4	4,8	0,6	0,06	150	0,9731
5	4,8	0,8	0,08	200	1,2965

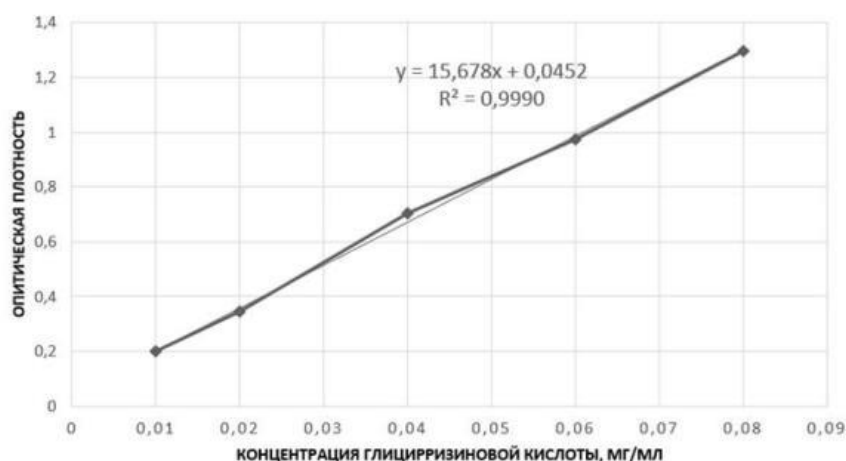


Рисунок 48 – Зависимость оптической плотности раствора от концентрации 18β-глицирризиновой кислоты

5.2.6. Оценка повторяемости методик

Оценена повторяемость двух аналитических методик за минимальный временной интервал, применив единую серию образцов, идентичные реагенты, одно и то же оборудование и по шесть параллельных проб для каждой. Определяли восстанавливающие сахара и глицирризиновую кислоту. Пределом приемлемости служило относительное стандартное отклонение (RSD) в 10 %. Для сахаров RSD составило 1,41 %. Методика определения глицирризиновой кислоты дала результат 0,91 % – оба значения уложились в установленные требования и отражены в Таблицах 38 и 39.

Таблица 38 – Повторяемость методики определения содержания восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов

Повторность	m навески, г	Полученное значение, %
1	2,0003	6,34

Продолжение Таблицы 38

2	2,0003	6,31
3	2,0001	6,22
4	2,0004	6,44
5	2,0000	6,20
6	2,0002	6,26
Среднее значение		6,29
Доверительный интервал (P=95%), %		6,29±0,09% 6,20 – 6,38
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		1,41

Таблица 39 – Повторяемость методики определения содержания глицирризиновой кислоты

Повторность	m навески, г	Полученное значение, %
1	2,0001	5,29
2	2,0000	5,21
3	2,0001	5,26
4	2,0002	5,32
5	2,0002	5,34
6	2,0000	5,25
Среднее значение		5,28
Доверительный интервал (P=95%), %		5,28±0,05% 5,21 – 5,34
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		0,91

5.2.7. Оценка внутрилабораторной прецизионности методик

Внутрилабораторную прецизионность методик оценивали при варьировании условий эксперимента: задействованы два analytika, три серии образцов, измерения выполняли в различные дни. Для каждого оператора предусматривалась трёхкратная повторность определений на каждой серии. Все исследования выполнены с использованием идентичного набора реактивов.

Установлено, что значения относительного стандартного отклонения (RSD) не превышают допустимого предела (5 %). Для методики определения восстанавливающих сахаров RSD находилось в диапазоне 0,48–0,83 %, для методики анализа глицирризиновой кислоты – в интервале 0,55–0,70 %, что

свидетельствует о приемлемой внутрилабораторной воспроизводимости разработанных методик (Таблицы 40-41).

Таблица 40 – Внутрилабораторная прецизионность методики определения содержания восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов

Повторность	Исполнитель	Содержание, %		
		Проба 1	Проба 2	Проба 3
1	1	9,29	7,28	5,98
2	1	9,23	7,38	6,06
3	1	9,51	7,24	6,00
4	2	9,44	7,41	6,09
5	2	9,34	7,33	6,04
6	2	9,39	7,25	5,99
Среднее значение		9,37	7,32	6,03
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		1,09	0,96	0,72

Таблица 41 – Внутрилабораторная прецизионность методики определения содержания глицирризиновой кислоты

Повторность	Исполнитель	Содержание, %		
		Проба 1	Проба 2	Проба 3
1	1	5,25	7,33	6,44
2	1	5,21	7,39	6,57
3	1	5,19	7,27	6,51
4	2	5,24	7,41	6,40
5	2	5,23	7,46	6,48
6	2	5,27	7,32	6,54
Среднее значение		5,23	7,36	6,49
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		0,55	0,94	0,97

5.2.8. Оценка правильности методик

Для подтверждения правильности методики количественного определения восстанавливающих сахаров использовали метод добавок стандартного образца глюкозы. Исследование проводил один оператор на одной серии образцов с

предварительно установленным содержанием аналита. К анализируемым пробам добавляли различные количества СО глюкозы, затем выполняли трёхкратные измерения для каждого уровня добавок.

Оценку правильности осуществляли по показателю «открываемость» (recovery), рассчитываемому как процентное отношение экспериментально найденного содержания к теоретически ожидаемому. Приемлемыми считаются значения recovery в диапазоне 95-105 %. Среднее значение открываемости, полученное для разработанной методики, составило 98,05 %, что свидетельствует о правильности методики (Таблица 42).

Таблица 42 – Правильность методики определения содержания восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов

Исходное содержание, мг	Внесено стандарта, мг	Расчётное значение, мг	Экспериментальное значение, мг	Открываемость, %
10,06	4,02	14,08	13,88	98,58
10,06	4,02	14,08	13,91	98,79
10,06	4,02	14,08	13,84	98,30
10,06	8,04	18,10	17,75	98,07
10,06	8,04	18,10	17,72	97,90
10,06	8,04	18,10	17,85	98,62
10,06	12,06	22,12	21,54	97,38
10,06	12,06	22,12	21,65	97,86
10,06	12,06	22,12	21,49	97,15
10,06	16,08	26,14	25,61	97,97
10,06	16,08	26,14	25,73	98,43
10,06	16,08	26,14	25,49	97,51
Среднее значение, %				98,05

Для подтверждения правильности методики количественного определения глицирризиновой кислоты применяли метод добавок стандартного образца. Исследование проводил один оператор на одной серии образцов с известным

исходным содержанием аналита. К пробам добавляли различные количества СО 18β-глицирризиновой кислоты, затем выполняли трёхкратные измерения для каждого уровня добавок.

Оценку правильности осуществляли по показателю recovery (открываемость), рассчитываемому как процентное отношение экспериментально полученного значения к теоретически рассчитанному. Приемлемыми считаются значения открываемости в диапазоне 95-105 %. Среднее значение recovery, полученное для разработанной методики, составило 99,09 %, что свидетельствует о её правильности (Таблица 43).

Таблица 43 – Правильность методики определения содержания глицирризиновой кислоты

Исходное содержание, мг	Внесено стандарта, мг, мг	Расчетное значение, мг	Экспериментальное значение, мг	Открываемость, %
1,2624	0,0560	1,3184	1,2988	98,51
1,2624	0,0560	1,3184	1,3056	99,01
1,2624	0,0560	1,3184	1,3048	98,97
1,2624	0,1120	1,3744	1,3682	99,55
1,2624	0,1120	1,3744	1,3652	99,33
1,2624	0,1120	1,3744	1,3586	98,85
1,2624	0,2240	1,4864	1,4722	99,04
1,2624	0,2240	1,4864	1,4738	99,15
1,2624	0,2240	1,4864	1,4729	99,09
1,2624	0,4480	1,7104	1,6984	99,30
1,2624	0,4480	1,7104	1,6989	99,33
1,2624	0,4480	1,7104	1,6924	98,95
Среднее значение, %				99,09

5.3. Выводы к главе 5

1. В результате проведённых исследований установлены оптимальные параметры методики СФМ анализа содержания восстанавливающих сахаров в составе ПСХ: размер частиц сырья 2 мм, соотношение сырьё-экстрагент 1:50, трёхкратная экстракция (по 30 минут). Оптимальные параметры при разработке

методики спектрофотометрического определения содержания глицирризиновой кислоты: размер частиц сырья 0,5 мм, соотношение сырьё-экстрагент 1:50, трёхкратная экстракция горячим ацетоном, время экстракции горячим ацетоном 5 мин.

2. Разработанные методики соответствуют критериям линейности, повторяемости, прецизионности, правильности.

3. Установлены следующие диапазоны содержания целевых групп БАС: восстанавливающие сахара в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу – от 5,98 % до 9,51 %, глицирризиновой кислоты – от 5,19 % до 7,46 %.

4. Для обеих форм ГС №2 предложенные методики позволяют оценить содержание основных БАС (восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу и глицирризиновой кислоты в абсолютно сухом сырье).

ГЛАВА 6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ГРУДНОГО СБОРА №2

Оценка [147] качества при стандартизации ЛРС согласно общим требованиям проводится по двум основным направлениям: определение подлинности и контроль доброкачественности.

Подлинность сырья устанавливают на основе совокупности признаков: макроскопических (внешний вид), микроскопических (анатомическое строение), а также путём обнаружения целевых групп БАС с помощью тонкослойной хроматографии и качественных реакций.

Доброкачественность сырья устанавливают по содержанию основных групп БАС (включая индивидуальные компоненты), значениям числовых показателей (влажность, зольность, степень измельчённости, содержание допустимых примесей), а также показателей безопасности (тяжёлые металлы, радионуклиды, остаточные количества пестицидов).

Показатели качества для измельчённого сырья и сбора-порошка ГС №2, предназначенные для внесения в проекты фармакопейных статей, разработаны и уточнены в настоящей работе ввиду отсутствия действующей нормативной документации на данный объект.

6.1. Влажность

Влажность измельчённого сбора и сбора-порошка определяли по ОФС.1.5.3.0007 Государственной фармакопеи РФ XV издания («Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения») [125]. Результаты анализа для измельчённой формы сбора отражены в Таблице 44, для порошковой формы – в Таблице 45.

Таблица 44 – Потеря в массе при высушивании в образцах ГС №2 измельчённого

Серия	Влажность, %
1	9,59
2	9,14
3	9,86
4	9,22
5	9,48
Среднее значение	9,46±0,29 %

Таблица 45 – Потеря в массе при высушивании в образцах ГС №2 сбора-порошка

Серия	Влажность, %
1	8,78
2	9,00
3	8,67
4	8,95
5	8,83
Среднее значение	8,85±0,13 %

Исходя из вышеприведённых данных, предлагается норма влажности для ГС №2 измельчённого и ГС №2 сбора-порошка – $\leq 13,0$ %.

6.2. Зола общая и зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте

Золу общую (ЗО) и золу, нерастворимую в 10 % хлористоводородной кислоте (Зола, н/р. в 10% HCl) определяли по методикам, приведенным в ОФС.1.2.2.2.0013 («Зола общая») [127] и ОФС.1.5.3.0005 («Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте») [124, 128]. Исследовали сбор ГС №2 в измельченной и порошковой формах. Численные значения содержания ЗО и золы, н/р. в 10% HCl, для измельченного сбора приведены в Таблице 46, для порошкового – в Таблице 47.

Таблица 46 – Показатели зольности измельчённого сбора

Серия	Содержание золы общей, %	Содержание золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, %
1	13,33	3,93
2	13,02	3,78
3	12,87	3,45

Продолжение Таблицы 46

4	12,99	3,77
5	13,13	3,86
Среднее значение	13,07±0,17 %	3,76±0,18 %

Таблица 47 – Показатели зольности сбора-порошка

Серия	Содержание золы общей, %	Содержание золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте 10 %, %
1	11,28	2,65
2	11,78	2,87
3	11,02	2,31
4	12,06	3,14
5	11,54	3,00
Среднее значение	11,54±0,41 %	2,79±0,3 %

На основе экспериментальных данных определили нормативы зольности для двух форм ГС №2. Для измельченного сырья и сбора-порошка ЗО не должна превышать 18,0 %, а для золы, н/р. в 10% HCl, предельное значение – 8,0 %.

6.3. Измельчённость и посторонние примеси

Определение измельчённости и содержания допустимых примесей (органической и минеральной) проводили согласно ОФС.1.5.3.0004 ГФ РФ XV издания «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Измельчённость ГС №2 измельчённого определяли ситовым анализом с использованием сит с диаметром отверстия 7 мм и 0,5 мм. Для ГС №2 сбора-порошка применялись сита с диаметром отверстия 2 мм и 0,18 мм. Результаты ситового анализа для каждой из исследованных форм приведены в Таблице 48 (измельчённое сырье) и Таблице 49 (сбор-порошок).

Таблица 48 – Показатели измельчённости грудного сбора №2 измельчённого

Серия	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями 7 мм, %	Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 0,5 мм, % [124]
-------	---	---

Продолжение Таблицы 48

1	2,99	3,87
2	3,13	3,92
3	3,06	3,99
4	3,08	3,95
5	2,95	4,04
Среднее значение	3,04±0,07%	3,95±0,07

Таблица 49 – Показатели измельчённости грудного сбора №2 сбора-порошка

Серия [124]	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями 2 мм, %	Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 0,18 мм, %
1	0,89	2,18
2	0,77	2,30
3	1,06	2,22
4	1,01	2,25
5	0,95	2,14
Среднее значение	0,94±0,11%	2,22±0,06

Органические и минеральные примеси (далее ОП и МП) в ГС №2 определяли визуально и под лупой (10×) методом ручной выборки. Данные для измельчённой и порошковой форм представлены в Таблицах 50 и 51.

Таблица 50 – Показатели посторонних примесей грудном сборе №2 измельчённом

Серия	Органическая примесь, %	Минеральная примесь, %
1	0,23	0,02
2	0,28	0,00
3	0,34	0,03
4	0,19	0,01
5	0,44	0,01
Среднее значение	0,30±0,1	0,01±0,01

Таблица 51 – Показатели посторонних примесей в грудном сборе №2 сборе-порошке

Серия	Минеральная примесь, %
1	0,01
2	0,01
3	0,01
4	0,00
5	0,02
Среднее значение	0,01±0,01

Были установлены нормативы качества сразу для двух форм ГС №2. Минеральная примесь в обеих не превышает 1,5%, а к измельченному сырью предъявляются требования по содержанию ОП (не более 1,5%), по доле частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм (не более 5,0%), и тех, что проходят сквозь сито с отверстиями 0,5 мм (не более 6,0%). Для сбора-порошка устанавливаются более строгие лимиты: не более 3,0% частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, и не более 5,0% тех, что проходят сквозь сито с отверстиями 0,18 мм [124].

6.4. Анализ содержания основных групп биологически активных соединений в грудном сборе №2

Для совершенствования подходов к стандартизации ГС №2 необходимо проводить количественную оценку, как ЭВв, так и отдельных гидрофильных групп БАС, а также индивидуальных соединений этих групп. Гидрофильные группы БАС обуславливают фармакологический эффект, поскольку лекарственной формой для медицинского применения является настой.

Определение содержания веществ, извлекаемых водой из Грудного сбора №2, выполняли по методике, регламентированной ОФС.1.5.3.0006 (ГФ РФ XV издания). Исследованию подвергали две лекарственные формы сбора – измельчённое сырьё и порошок. Полученные значения ЭВв для указанных лекарственных форм представлены в Таблице 52 (измельчённое сырьё) и Таблице 53 (сбор-порошок).

Таблица 52 – Содержание суммы экстрактивных веществ, извлекаемых водой в грудном сборе №2 измельчённом

Серия	Содержание, %
1	28,11
2	27,43
3	26,97
4	27,11

Продолжение Таблицы 52

5	29,34
Среднее значение	27,79±0,97

Таблица 53 – Содержание суммы экстрактивных веществ, извлекаемых водой в грудном сборе №2 сбора-порошке

Серия	Содержание, %
1	26,53
2	26,21
3	26,12
4	27,00
5	26,61
Среднее значение	26,49±0,35

Для характеристики полноты перехода компонентов в водную фазу определяли содержание сухого остатка настоев из обеих форм сбора. Данные сведения отражены в Таблицах 54-55.

Таблица 54 – Результаты определения содержания сухого остатка настоя ГС №2 измельчённого

Серия	Сухой остаток, %
1	2,94
2	2,30
3	2,17
4	2,78
5	3,07
Среднее значение	2,65±0,40

Таблица 55 – Результаты определения содержания сухого остатка настоя ГС №2 сбора-порошка

Серия	Сухой остаток, %
1	1,94
2	1,75
3	1,68
4	2,10
5	2,01
Среднее значение	1,90±0,18

Таким образом, предлагается установить следующие допустимые пределы для обеих форм сбора: содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой в обеих – не менее 25,0 %; массовая доля сухого остатка в настоях – не менее 1,0 %. Данные нормативы обоснованы результатами количественного анализа, согласно которым для измельчённого сырья интервал содержания экстрактивных веществ составил 26-29 %, для сбора-порошка – 26-27 %.

Получены данные по количеству восстанавливающих сахаров, входящих в состав полисахаридов ГС №2. Расчёт выполнен в пересчёте на глюкозу и абсолютно сухое сырьё (Таблицы 56-57).

Таблица 56 – Содержание суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырьё в ГС №2 измельчённом антроновым методом

Серия	Сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов, %
1	6,24
2	6,19
3	6,33
4	6,20
5	6,28
Хср.	6,25±0,06

Таблица 57 – Содержание суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырьё в ГС №2 сборе-порошке антроновым методом

Серия	Сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов, %
1	5,98
2	5,89
3	6,04
4	6,08
5	5,97
Хср.	5,99±0,07

Предлагаемая норма для показателя [124] «сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов (в пересчёте на глюкозу) в абсолютно сухом

сырье» составляет не менее 5,0 %. Данное значение обосновано результатами анализа серий ГС №2, согласно которым для измельчённой формы содержание указанных соединений находится в интервале 6,19-6,33 %, для порошковой – 5,89-6,08 %.

Результаты определения содержания ГК в абсолютно сухом сырье для ГС №2 измельчённого и ГС №2 сбора-порошка представлены в Таблицах 58-59.

Таблица 58 – Содержание глицирризиновой кислоты в измельчённом сборе

Серия	Содержание глицирризиновой кислоты, %
1	5,23
2	5,24
3	5,26
4	5,32
5	5,20
Среднее значение	5,25±0,04

Таблица 59 – Содержание глицирризиновой кислоты в сборе-порошке

Серия	Содержание глицирризиновой кислоты, %
1	4,86
2	4,93
3	5,05
4	4,98
5	5,00
Среднее значение	4,96±0,07

Таким образом, было установлено, что содержание глицирризиновой кислоты в ГС №2 измельчённом от 5,20 % до 5,32 %, в ГС №2 сборе-порошке – от 4,93 % до 5,05 %. Предлагается установить норму по показателю «Содержание глицирризиновой кислоты в абсолютно сухом сырье» для обоих объектов – не менее 4,0%.

6.5. Исследование стабильности грудного сбора №2

Стабильность ГС №2 устанавливали по динамике изменения содержания основных действующих веществ в процессе хранения. Срок наблюдения составлял 3 года с полугодовым интервалом отбора проб. Контролируемыми параметрами являлись: количество восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырье и содержание глицирризиновой кислоты в абсолютно сухом сырье. Исследование выполняли для двух форм выпуска ГС №2 – измельчённого сырья и сбора-порошка. Полученные результаты для каждой формы представлены в Таблице 60.

Таблица 60 – Стабильность сбора

Серия	Срок хранения	Сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов, % [124]	Содержание глицирризиновой кислоты, в %
<i>Сбор-измельчённый</i>			
1	-	6,19	5,26
	6 мес	6,08	5,22
	1 год	6,00	5,20
	1 год 6 мес	5,87	5,12
	2 года	5,61	4,89
	2 года 6 мес	5,42	4,74
	3 года	5,2	4,38
2	-	6,33	5,32
	6 мес	6,28	5,28
	1 год	6,17	5,22
	1 год 6 мес	6,04	5,14
	2 года	5,88	4,93
	2 года 6 мес	5,65	4,78
	3 года	5,32	4,47
3	-	6,28	5,20
	6 мес	6,21	5,14
	1 год	6,13	5,04
	1 год 6 мес	6,00	4,97
	2 года	5,82	4,81
	2 года 6 мес	5,54	4,53
	3 года	5,27	4,20

Продолжение Таблицы 60

<i>Сбор-порошок</i>			
1	-	6,04	4,93
	6 мес	6,00	4,89
	1 год	5,91	4,80
	1 год 6 мес	5,81	4,65
	2 года	5,65	4,49
	2 года 6 мес	5,33	4,31
	3 года	5,10	4,08
2	-	5,89	5,05
	6 мес	5,84	5,02
	1 год	5,77	4,93
	1 год 6 мес	5,65	4,74
	2 года	5,52	4,52
	2 года 6 мес	5,27	4,30
	3 года	5,02	4,18
3	-	6,08	4,86
	6 мес	6,03	4,82
	1 год	5,97	4,76
	1 год 6 мес	5,83	4,61
	2 года	5,68	4,43
	2 года 6 мес	5,37	4,25
	3 года	5,16	4,01

Полученные результаты изучения стабильности обеих форм грудного сбора №2 (измельчённого сырья и сбора-порошка) свидетельствуют о корректности установленных в работе нормативов качества. Установленные нормативы для «сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов (в пересчёте на глюкозу)» и «содержание глицирризиновой кислоты» (в пересчёте на абсолютно сухое сырьё) подтверждаются данными, полученными в ходе мониторинга стабильности.

6.6. Выводы к главе 6

1. Определены и уточнены показатели качества для двух форм сбора. Для измельчённого сбора определены следующие лимиты показателей качества: влажность (не более 13,0 %); ЗО (не более 18,0 %); зола, н/р. 10% HCl (не более 10,0 %); измельчённость: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями

размером 7 мм, – не более 5,0 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, – не более 6,0 %; МП и ОП (не более 1,5 %). Для сбора-порошка: потеря в массе при высушивании (влажность) (не более 13,0 %); ЗО (не более 18,0 %); зола, н/р. в 10% HCl (не более 8,0 %); МП (не более 1,5 %); измельчённость: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, – не более 3,0 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, – не более 5,0 %.

2. Сухого остатка в настое из ГС №2 предлагается нормировать на уровне не $\leq 1,0$ %, а экстрактивные вещества, извлекаемые водой – не $\leq 25,0$ %.

3. Для сбора обеих форм выпуска предлагается нормировать сумму восстанавливающих сахаров в составе ПСХ в пересчёте на глюкозу – не $\leq 5,0$ %; содержание ГК – не $\leq 4,0$ %.

4. Предложенные и обоснованные показатели качества вошли в состав проектов нормативной документации для двух модификаций сбора: измельченного (Приложение Б) и порошка (Приложение В).

5. Результаты изучения стабильности ГС №2 в течение 36 месяцев хранения подтверждают корректность установленных нормативов. Мониторинг содержания восстанавливающих сахаров и глицирризиновой кислоты показал, что их значения на протяжении всего срока годности не опускаются ниже рекомендованных пределов (5,0 % и 4,0 % соответственно), что позволяет рассматривать данные нормы для включения в нормативную документацию.

ГЛАВА 7. АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ НАСТОЕВ ГРУДНОГО СБОРА №2

7.1. Определение антиоксидантной активности

Определение антиоксидантной активности (АОА) настоев сбора проводили с использованием 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ) *in vitro* методом спектрофотометрии. При восстановлении ДФПГ соединениями, обладающими антиоксидантной активностью, до ДФПГ*Н происходит изменение окраски с тёмно-фиолетового до жёлтого цвета, интенсивность которой фиксируется при длине волны 520 нм. Снижение интенсивности окраски (уменьшение оптической плотности) пропорционально антиоксидантной активности образца.

Для характеристики антиоксидантной активности настоев грудного сбора №2 предварительно подбирали оптимальные разведения исследуемых образцов. Экспериментальные данные, полученные в ходе анализа (Таблицы 61-62), легли в основу построения графических зависимостей, показывающих связь между концентрацией суммы флавоноидов (мкг/мл) и процентом ингибирования ДФПГ-радикала (снижением оптической плотности). Полученные кривые представлены на Рисунках 49 и 50.

Таблица 61 – Антиоксидантная активность настоя грудного сбора №2 сбора-порошка (n=5, P=0,95)

Степень разведения пробы	Сумма флавоноидов в пересчёте на рутин, мкг/мл	Снижение оптической плотности ДФПГ, %	Полуингибирующая концентрация, мкг/мл
1:160	1,02	24,02 ± 1,71	28,65± 1,12
1:320	0,51	12,74 ± 1,55	
1:640	0,24	5,11 ± 1,09	
1:1280	0,13	1,30 ± 0,52	
1:2560	0,05	0,53 ± 0,08	

Таблица 62 – Антиоксидантная активность настоя грудного сбора №2 измельчённого (n=5, P=0,95)

Степень разведения пробы	Сумма флавоноидов в пересчёте на рутин, мкг/мл	Снижение оптической плотности ДФПГ, %	Полуингибирующая концентрация, мкг/мл
1:160	12,57	29,72 ± 1,88	20,83 ± 1,04
1:320	6,29	14,65 ± 1,63	
1:640	3,14	6,72 ± 1,04	
1:1280	1,57	2,67 ± 0,98	
1:2560	0,79	1,05 ± 0,20	

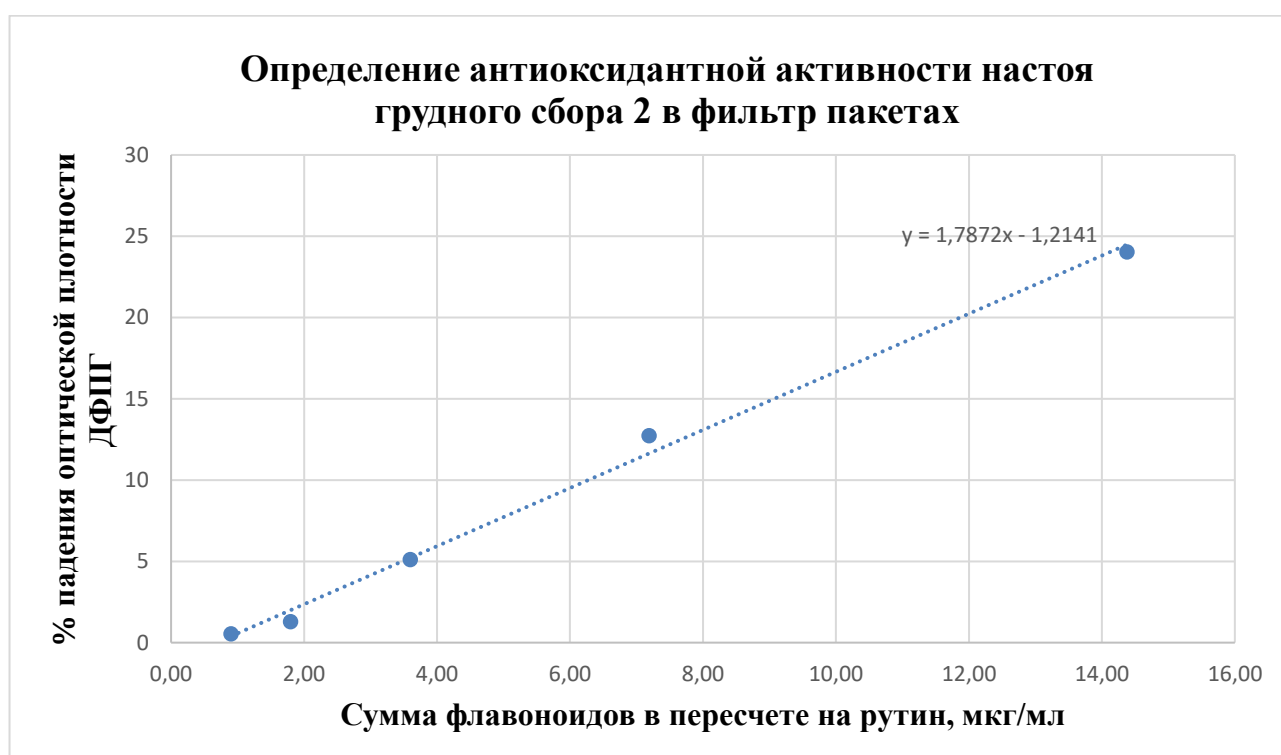


Рисунок 49 – Кривая «концентрация флавоноидов – антиоксидантная активность» для настоя ГС №2 сбора-порошка (ДФПГ-тест)

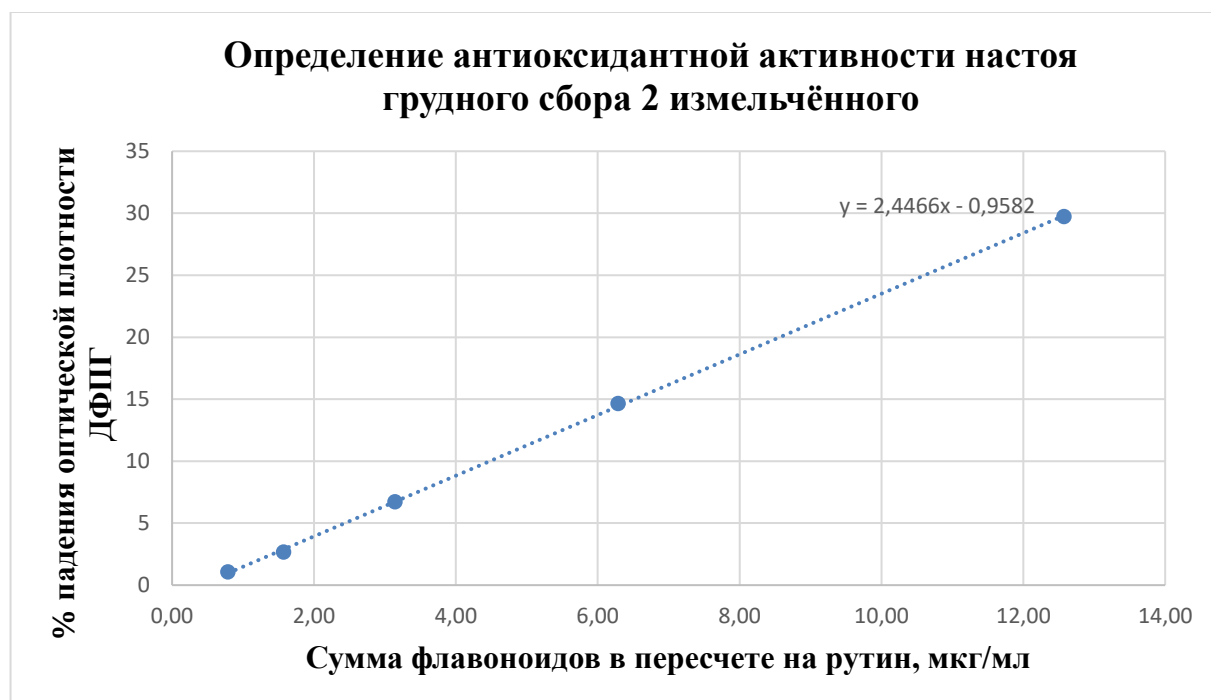


Рисунок 50 – Кривая «концентрация флавоноидов – антиоксидантная активность» для настоя измельчённой формы ГС №2 (ДФПГ-тест)

Экспериментально установлены следующие значения полуингибирующих концентраций: для настоя из сбора-порошка – $28,65 \pm 1,12$ мкг/мл; для настоя из измельчённого сырья – $20,83 \pm 1,04$ мкг/мл. Разница между показателями составляет 7,82 мкг/мл, причём более низкое значение IC₅₀, свидетельствующее о более высокой антиоксидантной активности, характерно для измельчённой формы сбора. В литературе нет сведений, касающихся определения антиоксидантной активности водных извлечений из ГС №2. Однако существуют данные определения АОА *in vitro* с использованием ДФПГ для компонентов сбора. Так, для водного извлечения из корней солодки (*radices Glycyrrhizae*) значение IC₅₀ составляет 43,6 мкг/мл [147]. Метанольный экстракт из листьев мать-и-мачехи (*Tussilago farfara*) характеризуется показателем полуингибирующей концентрации в интервале 33–55 мкг/мл [148]. Наиболее выраженная активность зафиксирована для водно-метанольного экстракта из листьев подорожника большого (*Plantago major*) – 7,32 мкг/мл [149]. Принимая во внимание такие факторы как соотношение компонентов в сборе, особенности проведения экстракции и подбора экстрагентов и их соотношений, региона сбора сырья можно сделать вывод, что полученные

нами данные согласуются с литературными и значения IC50 находятся в пределах одного порядка.

7.2. Выводы к главе 7

1. Установлена антиоксидантная активность настоя грудного сбора №2 измельчённого и настоя грудного сбора №2 сбора-порошка. Была доказана выраженная биологическая активность.

2. Значения полуингибирующей концентрации IC50 настоя ГС №2 измельчённого составило $20,83 \pm 1,04$ мкг/мл; настоя ГС №2 сбора-порошка – $28,65 \pm 1,12$ мкг/мл. Таким образом, антиоксидантная активность настоя ГС №2 измельчённого выше, чем настоя ГС №2 сбора-порошка.

3. Полученные сведения о выраженной антиоксидантной активности предполагают противовоспалительное действие сбора, поскольку окислительный стресс часто связан с воспалительными процессами, активизирующихся провоспалительными медиаторами и цитокинами.

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 со 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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АОА – антиоксидантная активность

АСР – антрон-сернистый реактив

БАС – биологически активные соединения

Водное извлечение 1 – водное извлечение, приготовленное согласно инструкции по применению лекарственного препарата

Водное извлечение 2 – водное извлечение, приготовленное согласно ОФС «Настои и отвары» Государственной Фармакопеи XV издания

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ВЭЖХ-РД – высокоэффективная жидкостная хроматография с рефрактометрическим детектором

ГЖХ – газожидкостная хроматография

ГК – глицирризиновая кислота

ГКК – гидроксикоричные кислоты

ГМ – гравиметрия

ГС №2 – грудной сбор №2

ГФ РФ XIV изд. – Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания

ГФ РФ XV изд. – Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издания

ГХ-ПИД – газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором

ДФПГ – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил

ЗО – зола общая

Зола, н/р. в 10% HCl – зола, нерастворимая в 10% хлористоводородной кислоте

ИМП ЛП – инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата

ИСП-МС – масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой

ЛП – лекарственный препарат

ЛРП – лекарственный растительный препарат ЛРС – лекарственное растительное сырьё

ЛС – лекарственное средство

ЛСРП – лекарственное средство растительного происхождения

ЛФ – лекарственная форма

МП – минеральная примесь

МС – масс-спектрометрия

НД – нормативная документация

ОП – органическая примесь

ОФС – общая фармакопейная статья

ПО – программное обеспечение

ПСК – полисахаридный комплекс

ПСХ – полисахариды

ПФ – подвижная фаза

СО – стандартный образец

СФМ – спектрофотометрия

ТСХ – тонкослойная хроматография

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

ФС – фармакопейная статья

ФСРП – фармацевтическая субстанция растительного происхождения

ЭВв – экстрактивные вещества, извлекаемые водой

Ara – арабиноза

Gal – галактоза

GalA – галактуроновая кислота

Glc – глюкоза

GlcA – глюкуроновая кислота

ESI+ – режим регистрации положительно заряженных ионов

ESI- – режим регистрации отрицательно заряженных ионов

Rha – рамноза

Fru – фруктоза

Xyl – ксилоза

IC50 – полуингибирующая концентрация

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Здравоохранение в России. 2023 : статистический сборник / Росстат. – Москва, 2023. – С. 32-33. – Текст : непосредственный.
2. Лазарева, Н. Б. Отхаркивающие лекарственные средства: принципы выбора и возможности современной фитотерапии / Н. Б. Лазарева, В. А. Ермакова // Медицинский совет. – 2018. – № 15. – С. 110-115.
3. Супотницкий, М. В. Новый коронавирус SARS-CoV-2 в аспекте глобальной эпидемиологии коронавирусных инфекций / М. В. Супотницкий // Вестник войск РХБ защиты. – 2020. – Т. 4. – № 1. – С. 32.
4. Бойко, Н. Н. Фитопрепараты, анализ фармацевтического рынка Российской Федерации / Н. Н. Бойко // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2017. – Т. 3. – № 4. – С. 30-38.
5. Государственный реестр лекарственных средств 2022 : сайт : интернет-версия. – URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx> (дата обращения: 26.08.2022).
6. ОФС.1.4.1.0018 «Настои и отвары». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 25.09.2023).
7. Оленников, Д. Н. Подорожник большой (*Plantago major* L.). Химический состав и применение / Д. Н. Оленников, Л. М. Танхаева // Химия растительного сырья. – 2007. – № 2. – С. 37-50.
8. Чевидаев, В. В. Углеводный состав полисахаридов грудного сбора № 2 / В. В. Чевидаев, Д. О. Боков, И. А. Самылина // Фармация. – 2021. – Т. 70. – № 2. – С. 11-17.
9. Горин, А. Г. Химическое исследование полисахаридов листьев *Plantago major* L. 1. Анализ моносахаридного состава полисахаридного комплекса / А. Г. Горин // Химия природных соединений. – 1965. – № 5. – С. 297-302.
10. Горин, А. Г. Химическое исследование полисахаридов листьев *Plantago major* L. 2. Пектовая кислота / А. Г. Горин // Химия природных соединений. – 1965. – № 6. – С. 369-372.

11. Isolation and partition characterization of biologically active polysaccharides from *Plantago major* L. / A. B. Samuelsen, B. S. Paulsen, J. K. Wold [et al.] // *Phytotherapy Research*. – 1995. – Vol. 9. – P. 211-218.
12. Characterization of a biologically active pectin from *Plantago major* L. / A. B. Samuelsen, B. S. Paulsen, J. K. Wold [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. – 1996. – Vol. 30. – P. 37-44.
13. Characterization of a biologically active arabinogalactan from the leaves of *Plantago major* L. / A. B. Samuelsen, B. S. Paulsen, J. K. Wold [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. – 1998. – Vol. 35. – P. 145-153.
14. Lukova, P. K. Enzymatic hydrolysis of water extractable polysaccharides from leaves of *Plantago major* L. / P. K. Lukova // *Folia Medica*. – 2017. – Vol. 59. – № 2. – P. 210-216.
15. Lukova, P. K. Comparison of structure and antioxidant activity of polysaccharides extracted from the leaves of *Plantago major* L., *P. media* L. and *P. lanceolata* L. / P. K. Lukova // *Bulgarian Chemical Communications*. – 2017. – Vol. 49. – P. 282-288.
16. Haaland, E. Water-soluble polysaccharides from the leaves of *Tussilago farfara* L. / E. Haaland // *Acta Chemica Scandinavica*. – 1969. – Vol. 23. – № 7. – P. 2546-2548.
17. Pielesz, A. Vibrational spectroscopy and electrophoresis as a “golden means” in monitoring of polysaccharides in medical plant and gels / A. Pielesz // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2012. – Vol. 93. – P. 63-69.
18. Моносахаридный состав полисахаридного комплекса листьев матери-и-мачехи / А. П. Корж, А. М. Гурьев, М. В. Белоусов [и др.] // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2011. – № 5. – С. 62-65.
19. Wittschier, N. Aqueous extracts and polysaccharides from liquorice roots (*Glycyrrhiza glabra* L.) inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa / N. Wittschier, G. Faller, A. Hensel // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2009. – Vol. 125. – № 2. – P. 218-223.
20. Methodical basis for analysis of monosaccharide profile of the polysaccharide complex in the mixture herbal product (*Pectorales Species* No. 2) / V. V. Chevadaev, D.

O. Bokov, O. G. Potanina [et al.] // Systematic Reviews in Pharmacy. – 2020. – Vol. 11. – № 6. – P. 213-220.

21. Purification, partial characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Glycyrrhiza uralensis* / C.-H. Zhang, Y. Yu, Y.-Z. Liang [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. – 2015. – Vol. 79. – P. 681-686.

22. Chanaj-Kaczmarek, J. Phenolics in the leaves / J. Chanaj-Kaczmarek, M. Wojcińska, I. Matławska // Herba Polonica. – 2013. – Vol. 59. – № 1. – P. 35-43.

23. Metabolomic profiling of the antitussive and expectorant plant *Tussilago farfara* L. by nuclear magnetic resonance spectroscopy and multivariate data analysis / Z. Y. Li, H. J. Zhi, F. S. Zhang [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2013. – Vol. 75. – P. 158-164.

24. Biologically active compounds from two members of the *Asteraceae* family: *Tragopogon dubius* Scop. and *Tussilago farfara* L. / S. Uysal, I. Senkardes, A. Mollica [et al.] // Journal of Biomolecular Structure and Dynamics. – 2019. – Vol. 37. – № 12. – P. 3269-3281.

25. Metabolic fingerprinting of *Tussilago farfara* L. Using ¹H-NMR spectroscopy and multivariate data analysis / H. J. Zhi, X. M. Qin, H. F. Sun [et al.] // Phytochemical Analysis. – 2012. – Vol. 23. – № 5. – P. 492-501.

26. Stoyanova, M. A. Biologically active compounds from *Tussilago farfara* L. / M. A. Stoyanova, M. N. Perifanova-Nemska // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – 2021. – Vol. 1031. – № 1. – Art. 012103.

27. Biochemical studies on *Plantago major* L. and *Cyamopsis tetragonoloba* L. / I. K. Mohamed, M. A. Osama, M. Samiha [et al.] // International Journal of Biodiversity and Conservation. – 2011. – Vol. 3. – № 3. – P. 83-91.

28. Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds *in vitro* / L. C. Chiang, W. Chiang, M. Y. Chang [et al.] // Antiviral Research. – 2002. – Vol. 55. – № 1. – P. 53-62.

29. Makhmudov, R. R. Phenolic compounds from *Plantago major* and *P. lanceolata* / R. R. Makhmudov, N. G. Abdulladzhanova, F. G. Kamaev // Chemistry of Natural Compounds. – 2011. – Vol. 47. – № 2. – P. 288-289.

30. Chromato-Mass-Spectrometry of the ethanol extract of liquorice root (*Glycyrrhiza glabra* L., *Fabaceae* Family) / V. V. Platonov, A. A. Khadartsev, G. T. Sukhikh [et al.] // Journal of New Medical Technologies. – 2020. – Vol. 14. – № 3. – P. 137-142.
31. Nomura, T. Chemistry of phenolic compounds of licorice (*Glycyrrhiza* species) and their estrogenic and cytotoxic activities / T. Nomura, T. Fukai, T. Akiyama // Pure and Applied Chemistry. – 2002. – Vol. 74. – № 7. – P. 1199-1206.
32. Characterization of phenolic compounds and antioxidant properties of *Glycyrrhiza glabra* L. rhizomes and roots / N. Martins, L. Barros, M. Dueñas [et al.] // RSC Advances. – 2015. – Vol. 5. – № 34. – P. 26991-26997.
33. Separation and characterization of phenolic compounds and triterpenoid saponins in licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) using mobile phase-dependent reversed-phase× reversed-phase comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled with mass spectrometry / X. Qiao, W. Song, S. Ji [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2015. – Vol. 1402. – P. 36-45.
34. Phenolic compounds from cultivated *Glycyrrhiza uralensis* and their PD-1/PD-L1 inhibitory activities / F. Bao, H. Y. Bai, Z. R. Wu [et al.] // Natural Product Research. – 2021. – Vol. 35. – № 4. – P. 562-569.
35. Zhang, Q. Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-Cao (licorice) / Q. Zhang, M. Ye // Journal of Chromatography A. – 2009. – Vol. 1216. – № 11. – P. 234-241.
36. Yang, M. A systematic summary of natural compounds in *radix Glycyrrhizae* / M. Yang, Y. Jin, Y. Li-Ping // Traditional Medicine Research. – 2018. – Vol. 3. – № 2. – P. 82.
37. A comparative analysis of the anatomy, phenolic profile, and antioxidant capacity of *Tussilago farfara* L. vegetative organs / V. B. Bota, A. A. Neamtu, N. K. Olah [et al.] // Plants. – 2022. – Vol. 11. – № 13. – P. 1663.
38. Coltsfoot leaves (*Tussilago farfara* L.) a promising source of essential amino acids / E. P. Chromchenkova, D. O. Bokov, V. V. Bessonov [et al.] // Systematic Reviews in Pharmacy. – 2020. – Vol. 11. – № 6. – P. 221-225.

39. Недилько, О. В. Изучение аминокислотного состава надземной и подземной частей солодки голой / О. В. Недилько, А. В. Яницкая // Химия растительного сырья. – 2020. – № 1. – С. 251-256.
40. Study of phytochemical compounds of *Plantago major* leaves grown in Kazakhstan / A. Turgumbayeva, K. Zhakipbekov, Z. Shimirova [et al.] // Pharmacia. – 2022. – Vol. 69. – № 4. – P. 1019-1026.
41. Norani, M. Volatile constituents and antioxidant capacity of seven *Tussilago farfara* L. populations in Iran / M. Norani, M. T. Ebadi, M. Ayyari // Scientia Horticulturae. – 2019. – Vol. 257. – P. 108635.
42. Volatile constituents and toxicity of essential oils extracted from aerial parts of *Plantago lanceolata* and *Plantago major* growing in Iran / S. Rahamouz Haghighi, A. Yazdinezhad, K. Bagheri [et al.] // Pharmaceutical and Biomedical Research. – 2022. – Vol. 8. – № 3. – P. 205-224.
43. Wagner, J. Characterization of the key aroma compounds in raw licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) by means of molecular sensory science / J. Wagner, M. Granvogl, P. Schieberle // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2016. – Vol. 64. – № 44. – P. 8388-8396.
44. Gyawali, R. Effect of γ -irradiation on the volatile compounds of licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer) / R. Gyawali // European Food Research and Technology. – 2008. – Vol. 226. – № 3. – P. 577-582.
45. Green-based methods to obtain bioactive extracts from *Plantago major* and *Plantago lanceolata* / S. Mazzutti, C. A. Riehl, E. Ibañez [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2017. – Vol. 119. – P. 211-220.
46. Chemical constituents and medical benefits of *Plantago major* / M. B. Adom, M. Taher, M. F. Mutalabisin [et al.] // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2017. – Vol. 96. – P. 348-360.
47. Lipids of *Glycyrrhiza glabra* roots / S. G. Yunusova, V. T. Danilov, M. S. Yunusov [et al.] // Russian Chemical Bulletin. – 1995. – Vol. 44. – P. 359-362.
48. Кацуба, И. К. Исследование жирнокислотного состава листьев, цветков и корней мать-и-мачехи обыкновенной / И. К. Кацуба, В. С. Кисличенко, Е. Н.

Новосел // Актуальные проблемы медицины. – 2013. – Т. 23. – № 18 (161). – С. 247-250.

49. Mineral element content of some herbs and plant extracts with antiinflammatory effect used in gastrointestinal diseases / K. Szentmihályi, Z. May, K. Süle [et al.] // Orvosi Hetilap. – 2013. – Vol. 154. – № 14. – P. 538-543.

50. Ghosh, J. *Tussilago farfara* L., a promising ethnomedicinal plant of Sikkim / J. Ghosh, M. Midday, D. Maity // Exploratory Animal and Medical Research. – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 100-103.

51. Determination of the macro elements content of some medicinal herbs / D. S. Ştef, I. Gergen, L. Ştef [et al.] // Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies. – 2010. – Vol. 43. – № 1. – P. 122-126.

52. Study of antioxidants and anticancer activity licorice *Glycyrrhiza glabra* extracts / M. K. Morsi, B. El-Magoli, N. T. Saleh [et al.] // Egyptian Journal of Nutrition and Feeds. – 2008. – Vol. 2. – № 33. – P. 177-203.

53. Antioxidant and antibacterial activities of *Portulaca oleracea* L. grown wild in Turkey / S. Ercisli, I. Coruh, A. Gormez [et al.] // Italian Journal of Food Science. – 2008. – Vol. 20. – № 4. – P. 533-542.

54. Изучение элементного состава сбора антигепатоксического действия и входящих в него компонентов / Е. В. Ферубко, В. Н. Зеленков, Е. В. Чупарина [и др.] // II Международная научная конференция «Роль метаболомики в совершенствовании биотехнологических средств производства» : по направлению «Метаболомика и качество жизни». – Москва: ФГБНУ «ВИЛАР», 2019. – С. 72-76. – Текст : непосредственный.

55. The ability of acid-based natural deep eutectic solvents to co-extract elements from the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. and associated health risks / A. N. Shikov, V. A. Shikova, A. O. Whaley [et al.] // Molecules. – 2022. – Vol. 27. – № 22. – P. 7690.

56. Allen, D. E. Medicinal plants in folk tradition: an ethnobotany of Britain & Ireland / D. E. Allen, G. Hatfield // Portland : Timber Press, 2004. – 431 p. – Текст : непосредственный.

57. Phytochemical and pharmacological research progress in *Tussilago farfara* / K. Y. Liu, T. J. Zhang, W. Y. Cao [et al.] // China Journal of Chinese Materia Medica. – 2006. – Vol. 31. – № 22. – P. 1837-1841.
58. Dulger, B. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine / B. Dulger, A. Gonuz // Asian Journal of Plant Sciences. – 2004. – Vol. 3. – № 1. – P. 104-107.
59. Turker, A. U. Biological screening of some Turkish medicinal plant extracts for antimicrobial and toxicity activities / A. U. Turker, C. Usta // Natural Product Research. – 2008. – Vol. 22. – № 2. – P. 136-146.
60. Antimicrobial activity of *Tussilago farfara* L. / M. Kačániová, L. Hleba, J. Petrová, S. Felšöciová, A. Pavelková [et al.] // Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. – 2013. – Vol. 2. – P. 1343-1350.
61. Modulation of cytokine production and complement activity by biopolymers extracted from medicinal plants / S. C. Jeong, S. R. Koyyalamudi, J. M. Hughes [et al.] // Phytopharmacology. – 2013. – Vol. 4. – № 1. – P. 19-30.
62. Neuroprotective and antioxidant effects of the ethyl acetate fraction prepared from *Tussilago farfara* L. / J. Cho, H. M. Kim, J. H. Ryu [et al.] // Biological and Pharmaceutical Bulletin. – 2005. – Vol. 28. – № 3. – P. 455-460.
63. Li, Y. P. Evaluation of tussilagone: a cardiovascular-respiratory stimulant isolated from chinese herbal medicine / Y. P. Li, Y. M. Wang // General Pharmacology. – 1988. – Vol. 19. – № 2. – P. 261-263.
64. Neuroprotection against 6-OHDA toxicity in PC12 cells and mice through the Nrf2 pathway by a sesquiterpenoid from *Tussilago farfara* / J. Lee, K. Song, E. Huh [et al.] // Redox biology. – 2018. – Vol. 18. – P. 6-15.
65. Sesquiterpenoids isolated from the flower buds of *Tussilago farfara* L. inhibit diacylglycerol acyltransferase / H. R. Park, M. Y. Yoo, J. H. Seo [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2008. – Vol. 56. – № 22. – P. 10493-10497.
66. Hepatoprotective and anti-inflammatory activities of *Plantago major* L. / I. Türel, H. Özbek, R. Erten [et al.] // Indian Journal of Pharmacology. – 2009. – Vol. 41. – № 3. – P. 120-124.

67. Immune enhancing properties of *Plantago major* leaf extract / R. Gomez-Flores, C. L. Calderon [et al.] // *Phytotherapy Research*. – 2000. – Vol. 14. – P. 617-622.
68. Atta, A. H. Potential protective effect of some plant extracts against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity / A. H. Atta, S. M. Naser, S. M. Mouneir // *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. – 2006. – Vol. 3. – № 3. – P. 1-9.
69. *In vivo* anti-inflammatory activities of *Plantago major* extract and fractions and analysis of their phytochemical components using a high-resolution mass spectrometry / A. Triastuti, D. A. Pradana, I. D. Setiawan [et al.] // *Research in Pharmaceutical Sciences*. – 2022. – Vol. 17. – № 6. – P. 665-676.
70. Atta, A. H. Antiulcerogenic effect of some plants extracts / A. H. Atta, S. M. Naser, S. M. Mouneir // *Natural Products Radiance*. – 2005. – Vol. 4. – № 4. – P. 258-263.
71. Anti-*Helicobacter pylori* activity of plant extracts traditionally used for the treatment of gastrointestinal disorders / L. L. Cogo, C. L. B. Monteiro, M. D. Miguel [et al.] // *Journal of Microbiology*. – 2010. – Vol. 41. – P. 304-309.
72. Atta, A. H. Evaluation of some medicinal plant extracts for antidiarrhoeal activity / A. H. Atta, S. M. Mouneir // *Phytotherapy Research*. – 2005. – Vol. 19. – P. 481-485.
73. Atta, A. H. The anti-nociceptive effect of some Egyptian medicinal plant extracts / A. H. Atta, K. Abo EL-Sooud // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2004. – Vol. 95. – P. 235-238.
74. Effect of *Plantago major* on cell proliferation *in vitro* / R. Velasco-Lezama, R. Tapia-Aguilar, R. Román-Ramos [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2006. – Vol. 103. – P. 36-42.
75. Effects of *Plantago major* L. leaf extracts on oral epithelial cells in a scratch assay / M. Zubair, A. Ekholm, H. Nybom [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2012. – Vol. 141. – P. 825-830.
76. Biochemical studies on *Plantago major* L. and *Cyamopsis tetragonoloba* L. / K. I. Mohamed, M. A. Osama, M. Samiha [et al.] // *International Journal of Biodiversity and Conservation*. – 2011. – Vol. 3. – № 3. – P. 83-91.

77. Евдокимова, О. В. Разработка методологии стандартизации и контроля качества средств растительного происхождения (гармонизация, унификация, валидация) : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» : диссертация ... доктора фармацевтических наук/Евдокимова Ольга Владимировна; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Москва, 2012. – 349 с. – Текст : непосредственный.
78. Бровченко, Б. В. Совершенствование методов контроля качества измельченного сырья и препаратов солодки : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» диссертация ... кандидата фармацевтических наук/Бровченко Богдан Витальевич; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2020. – 172 с. – Текст : непосредственный.
79. Hamad, G. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) root and its application in functional yoghurt / G. Hamad // Journal of Food and Nutrition Research. – 2020. – Vol. 8. – № 12. – P. 707-715.
80. Sheela, M. L. Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza glabra* / M. L. Sheela, M. K. Ramakrishna, B. P. Salimath // International Immunopharmacology. – 2006. – Vol. 6. – № 3. – P. 494-498.
81. Dissanayake, K. G. C. Root/stem extracts of *Glycyrrhiza glabra*; as a medicinal plant against disease forming microorganisms / K. G. C. Dissanayake, W. Weerakoon, W. Perera // International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR). – 2020. – Vol. 51. – № 1. – P. 1-11.
82. Therapeutic potential of widely used unani drug Asl-Us-Soos (*Glycyrrhiza glabra* Linn.): a systematic review / A. Ishtiyag, A. Alam, J. I. Siddiqui [et al.] // Journal of Drug Delivery and Therapeutics. – 2019. – Vol. 9. – № S4. – P. 765-773.

83. *In vivo* anti-diabetic activity of derivatives of isoliquiritigenin and liquiritigenin / R. Gaur, K. S. Yadav, R. K. Verma [et al.] // *Phytomedicine*. – 2014. – Vol. 21. – P. 415-422.
84. Icer, M. A. A review: pharmacological effects of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) on human health / M. A. Icer, N. Sanlier, N. Sanlier // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2021. – Vol. 267. – P. 113494.
85. Sharma, V. *In vivo* antioxidant and hepatoprotective potential of *Glycyrrhiza glabra* extract on carbon tetrachloride (CCl₄) induced oxidative-stress mediated hepatotoxicity / V. Sharma, R. C. Agrawal // *International Journal of Research in Medical Sciences*. – 2014. – Vol. 2. – № 1. – P. 314.
86. Saxena, S. *Glycyrrhiza glabra*: medicine over the millennium / S. Saxena // *Natural Product Radiance*. – 2005. – Vol. 19. – № 6. – P. 358-367.
87. Lee, K. K. Antispasmodic effect of shakuyakukanzoto extract on experimental muscle cramps in vivo: role of the active constituents of *Glycyrrhizae radix* / K. K. Lee // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2013. – Vol. 145. – № 1. – P. 286-293.
88. Khoshnazar, S. M. Effect of alcoholic extract of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) rhizome on isolated duodenum motility in male rats and its interference with cholinergic, nitrenergic, and adrenergic systems / S. M. Khoshnazar, A. Bahaoddini, H. Najafipour // *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*. – 2013. – Vol. 2. – № 12. – P. 173-177.
89. *In vitro* study of the antifungal potential of *Glycyrrhiza glabra* L. against *Candida* species / N. Martins, S. Sónia, L. Barros [et al.] // *Planta Medica*. – 2014. – Vol. 80. – № 16. – P. 1-11.
90. Antimicrobial potential of *Glycyrrhiza glabra* / A. Abbas, M. Zubair, N. Rasool, K. Rizwan // *Journal of Drug Design and Medicinal Chemistry*. – 2015. – Vol. 1. – № 2. – P. 17-20.
91. Comparative studies on antibacterial activity of licorice, elderberry and dandelion / S. Rodino, A. Butu, M. Butu [et al.] // *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. – 2015. – Vol. 10. – № 3. – P. 947-955.

92. Anti-inflammatory effects of licorice and roasted licorice extracts on TPA-induced acute inflammation and collagen-induced arthritis in mice / K. R. Kim, C. K. Jeong, K. K. Park [et al.] // BioMed Research International. – 2010. – Vol. 21. – P. 709378.
93. Noori, W. O. Extraction of glycyrrhizin from licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) by bulk liquid membrane / W. O. Noori, B. I. Waisi, M. H. Alhassani // Environmental Technology & Innovation. – 2018. – Vol. 12. – P. 180-188.
94. Dirican, E. *In vitro* studies on protective effect of *Glycyrrhiza glabra* root extracts against cadmium-induced genetic and oxidative damage in human lymphocytes / E. Dirican, H. Turkez // Cytotechnology. – 2014. – Vol. 66. – P. 9-16.
95. Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extract roots of *Glycyrrhiza glabra* and HPLC analysis / P. K. P. G. Chopra, B. D. Saraf, F. A. R. H. I. N. Inam [et al.] // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2013. – Vol. 5. – № 2. – P. 157-160.
96. Damle, M. *Glycyrrhiza glabra* (Liquorice) – a potent medicinal herb / M. Damle // International Journal of Herbal Medicine. – 2014. – Vol. 2. – № 2. – P. 132.
97. *In vitro* effect of *G. glabra* and *T. cordifolia* plant extracts on phagocytosis by human neutrophils / G. P. Vikhe, P. P. Vikhe, S. S. Naik [et al.] // Pravara Medical Review. – 2013. – Vol. 5. – № 2. – P. 12-15.
98. Chakravarthi, K. K. Effect of *Glycyrrhiza glabra* root extract on learning and memory in wistar albino rats / K. K. Chakravarthi, R. Avadhani, R. S. Narayan // Drug Invention Today. – 2012. – Vol. 4. – № 7. – P. 387-390.
99. Effect of yashtimadhu (*Glycyrrhiza glabra*) on intelligence and memory function in male adolescents / A. Teltumbde, A. Wahurwagh, M. Lonare [et al.] // Scholars Journal of Applied Medical Sciences. – 2013. – Vol. 1. – № 1. – P. 90-95.
100. Potentiating effect of glabridin on GABAA receptor-mediated responses in dorsal raphe neurons / Z. Jin, S. Kim, S. Cho [et al.] // Planta Medica. – 2013. – Vol. 79. – № 15. – P. 1408-1412.
101. Лекарственные растительные препараты и лекарственные средства растительного происхождения для комплексной терапии и реабилитации пожилых

пациентов с ХОБЛ / В. В. Чевидаев, М. Н. Родин, Д. О. Боков [и др.] // Фармация. – 2025. – № 1. – С. 13-21.

102. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 11th Edition [Электронный ресурс]. // Council of Europe. Доступ по подписке. – URL: <https://pheur.edqm.eu/> (дата обращения: 01.07.2025).

103. Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2020 [Электронный ресурс]. // Chinese Pharmacopoeia Commission. – URL: <https://ydz.chp.org.cn> (дата обращения: 08.09.2020).

104. ОФС.1.4.1.0020 «Сборы». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 20.05.2024).

105. ОФС.1.5.1.0003 «Листья». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 11.08.2024).

106. ОФС.1.5.1.0006 «Корни, корневища, луковицы, клубни, клубнелуковицы». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 11.08.2024).

107. ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 11.08.2024).

108. Фармакогностическое изучение *Cosmos bipinnatus* Cav. (сем. *Asteraceae*), культивируемой в Западном Предкавказье / Е. О. Куличенко, Э. Т. Оганесян, О. А. Андреева [и др.] // Химия растительного сырья. – 2023. – № 2. – С. 231-240.

109. ФС.2.5.0040.15 «Солодки корни». Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. – URL: <http://femb.ru/feml> (дата обращения: 23.05.2023).

110. ФС.2.5.0027.15 «Мать-и-мачехи обыкновенной листья». Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. – URL: <http://femb.ru/feml> (дата обращения: 23.05.2023).

111. ФС.2.5.0039.15 «Синюхи голубой корневища с корнями». Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. – URL: <http://femb.ru/feml> (дата обращения: 23.05.2023).
112. ФС.2.5.0095.18 «Сушеницы топяной трава». Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. – URL: <http://femb.ru/feml> (дата обращения: 23.05.2023).
113. Фармакопейная оценка качественного состава водорастворимых биологически активных соединений (БАС) и содержания полисахаридов в грудном сборе №2 / В. В. Чевидаев, Д. О. Боков, А. В. Фарыгин [и др.] // Известия ГГТУ. Медицина, фармация. – 2020. – № 4. – С. 295-298.
114. ОФС.1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 11.08.2024).
115. Оптимизация ВЭЖХ-методики количественного определения глицирризиновой кислоты в корнях солодки / Б. В. Бровченко, В. А. Ермакова, А. Н. Кузьменко [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – № 3. – С. 162-165.
116. Разработка параметров стандартизации сырья ряски малой (*Lemna minor* L.) / Л. Н. Никифоров, С. В. Кривошеков, Н. Э. Коломиец [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10. – № 1. – С. 74-81.
117. 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. Samylina, V.V. Chevidaev [et al.] // Systematic Reviews in Pharmacy. – 2020. – Vol. 11. – № 6. – P. 206-212.
118. ФС.2.5.0032.15 «Подорожника большого листья». Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. – URL: <http://femb.ru/feml> (дата обращения: 23.05.2023).

119. ОФС.1.2.3.0019 «Определение сахаров спектрофотометрическим методом». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 10.12.2024).
120. Содержание инулина в растворимом натуральном цикории после ферментативного гидролиза методом ВЭЖХ-РД / Д. О. Боков, Е. П. Хромченкова, М. С. Сокуренок [и др.] // Пищевая промышленность. – 2017. – № 9. – С. 22-25.
121. Тринеева, О. В. Изучение углеводного комплекса плодов облепихи крушиновидной различными методами / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2020. – № 2. – С. 91-98.
122. 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.
123. Самылина, И. А. Фармакогнозия. Атлас в 3-х томах / И. А. Самылина, Н. В. Бобкова, О. Г. Потанина. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2024. – Т. 3. – 480 с. – Текст : непосредственный.
124. Кахраманова, С. Д. Изучение состава биологически активных соединений грудного сбора № 1 и лекарственного растительного препарата на его основе : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Кахраманова Сабина Джейхуновна; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2024. – 155 с. – Текст : непосредственный. – URL: <https://www.sechenov.ru/upload/iblock/792/loc3px88zm6sp3yhbrna3miaf98wq4/DISERTATSIYA-Kakhramanova.pdf> (дата обращения: 11.08.2025).
125. ОФС.1.5.3.0007 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 11.08.2024).

126. ОФС.1.2.2.2.0013 «Зола общая». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 16.08.2024).
127. ОФС.1.5.3.0005 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 11.08.2024).
128. ОФС.1.5.3.0004 «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 11.08.2024).
129. 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; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2025. – 192 с. – Текст : непосредственный. URL: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01014243479> (дата обращения: 11.03.2026).
130. ФС.2.5.0015.15 «Зверобоя трава». Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. – URL: <http://femb.ru/feml> (дата обращения: 23.05.2023).
131. ОФС.1.5.3.0008 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 11.08.2024).
132. Аминокислотный состав грудных сборов №1 и №2 и настоев на их основе / В. В. Чевидаев, С. Д. Кахраманова, Д.О. Боков [и др.] // Фармация. – 2022. – Т. 71. – № 1. – С. 33-38.
133. Volatile compounds and fatty acids of mixture herbal product Pectorales species No. 2 / V. V. Chevidaeв, D. O. Bokov, A. D. Malinkin [et al.] // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2024. – Vol. 17. – № 11. – P. 5412-5416.

134. Golay, P. A. Determination of labeled fatty acids content in milk products, infant formula, and adult/pediatric nutritional formula by capillary gas chromatography: single-laboratory validation, first action 2012.13 / P. A. Golay, Y. Dong // Journal of AOAC International. – 2015. – Vol. 98. – № 6. – P. 1679-1696.
135. Исследование элементного состава грудного сбора № 2 и его компонентов / В. В. Чевидаев, Д. О. Боков, И. А. Гравель [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2024. – Т. 14. – № 2. – С. 171-180.
136. Валидация методики определения ртути, свинца, кадмия и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах на его основе методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой / В. М. Щукин, Е. С. Жигилей, А. А. Ерина [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2020. – Т. 54. – № 9. – С. 57-64.
137. ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 24.04.2024).
138. Валидация аналитических методик для производителей лекарств: Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств / Под редакцией В. В. Береговых. – Москва : Литтерра, 2008. – 132 с. – Текст : непосредственный.
139. ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/> (дата обращения: 24.04.2024).
140. Иванцова, Л. В. К исследованию антиоксидантной активности листьев персика обыкновенного *Persica vulgaris folia* / Л. В. Иванцова, В. Д. Белоногова, Д. К. Гуляев // Традиционная медицина. – 2019. – № 3 (58). – С. 10–13.
141. The study of flavonoid composition and antioxidative activity of *nootropic species* / E. A. Dorovskikh, D. A. Trashchenkova, T. Y. Kovaleva [et al.] // Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry. – 2020. – Vol. 23. – № 4. – P. 33-37.

142. Total phenolics, mineral contents, antioxidant and antibacterial activities of *Glycyrrhiza glabra* L. roots grown wild in Turkey / S. Ercişli, I. Coruh, A. A. Gormez [et al.] // Italian Journal of Food Science. – 2008. – Vol. 20. – № 1. – P. 91-99.
143. Писарев, Д. И. Фармакогнозия. Специальная часть : учебное пособие / Д. И. Писарев, О. О. Новиков – Москва: КноРус, 2024.– 400 с. – Текст : непосредственный.
144. Левушкин, Д. В. Многокомпонентные лекарственные сборы как источник макроэлементов / Д. В. Левушкин, И. В. Гравель // Вестник фармации. – 2021. – № 4. – С. 9-14.
145. Нормирование содержания тяжелых металлов и мышьяка как фактор безопасности использования лекарственных растительных препаратов / М. С. Галенко, И. В. Гравель, Н. Ю. Вельц [и др.] // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2021. – Т. 9. – № 2. – С. 61-68.
146. Родин, М.Н. Разработка и валидация методики количественного определения полисахаридов в цветках липы/ М.Н. Родин, Д.О. Боков, С.Д. Кахраманова, И.А.Самылина// Фармация. – 2024. – Т. 73. – № 7. – С. 5-13.
147. Visavadiya, N. P. Evaluation of antioxidant and anti-atherogenic properties of *Glycyrrhiza glabra* root using in vitro models / N. P. Visavadiya, B. Soni, N. Dalwadi // International Journal of Food Sciences and Nutrition. – 2009. – Vol. 60. – № S2. – P. 135-149.
148. Discovering the major antitussive, expectorant, and anti-inflammatory bioactive constituents in *Tussilago farfara* L. based on the spectrum–effect relationship combined with chemometrics / L. Yang, H. Jiang, S. Wang [et al.] // Molecules. – 2020. – Vol. 25. – № 3. – P. 620.
149. Antioxidant and hepatoprotective potential of *Plantago major* growing in Egypt and its major phenylethanoid glycoside, acteoside / A. H. Eldesoky, R. F. Abdel-Rahman, O. K. Ahmed [et al.] // Journal of Food Biochemistry. – 2018. – Vol. 42. – № 5. – P. e12567.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Номенклатура лекарственных растительных препаратов и лекарственных средств растительного происхождения на основе компонентов грудного сбора №2 (на основе данных ГРЛС) [5]

МНН	Торговое наименование	Форма выпуска	Лекарственная форма	Производитель	Фармакотерапевтическая группа
<i>Однокомпонентные лекарственные растительные препараты</i>					
<i>Мать-и-мачехи обыкновенной листья</i>					
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	Мать-и-мачехи листья	Листья измельченные	Настой	Россия: ООО Фирма "Здоровье" ООО "Лек С+" ООО Фирма "Фито-Бот"	отхаркивающее средство растительного происхождения [5]
<i>Подорожника большого листья</i>					
Подорожника большого листья	Подорожника большого листья	Листья измельченные; листья порошок	Настой	Россия: ООО Фирма "Здоровье", АО "Красногорсклексредства", ООО Фирма "Фито-Бот"	отхаркивающее средство растительного происхождения [5]
<i>Солодки корни</i>					
Солодки корни	Солодки корни	Корни измельченные; корни порошок	Отвар для корней измельченных; настой для корней порошка	Россия: ООО Фирма "Здоровье", АО "Красногорсклексредства", ООО "МФП" "Сообщество "Магнолия"	отхаркивающее средство растительного происхождения [5]
<i>Многокомпонентные лекарственные растительные препараты</i>					
<i>Мать-и-мачехи обыкновенной листья, подорожника большого листья, солодки корни</i>					
Мать-и-мачехи листья+Подорожника большого листья+Солодки корни; Мать-и-мачехи	Фитопектол №2 (Грудной сбор №2); Грудной сбор №2	Сбор измельченный; сбор растительный-сырье измельченное; сбор-порошок	Настой	Россия: АО "Красногорсклексредства", ООО Фирма "Здоровье", ООО "Лек С+" АО "Иван-чай", АО	отхаркивающее средство растительного происхождения [5]

Продолжение Таблицы А.1

обыкновенной листья+Подорожника большого листья+Солодки корни				"Ст.-Медифарм", Лек С+ ООО	
<i>Мать-и-мачехи обыкновенной листья и подорожника большого листья</i>					
Лапчатки прямостоячей корневища+Мать-и- мачехи обыкновенной листья+Подорожника большого листья+Тысячелистника обыкновенного травы+Шалфея лекарственного листья	Фитодиарин	Сбор измельчённый, сбор-порошок	Настой	Россия: ООО Фирма "Здоровье"	растительного происхождения средство (антимикробное, вяжущее, противовоспалительное действие) [5]
Багульника болотного побеги+Девясила корневища с корнями+Календулы лекарственной цветки+Мать-и-мачехи листья+Мяты перечной листья+Подорожника большого листья	Отхаркивающий сбор	Сбор растительный- сырье измельченное; сбор растительный- порошок	Настой	Лек С+ ООО	растительного происхождения средство (отхаркивающее действие) [5]
<i>Мать-и-мачехи обыкновенной листья</i>					
Аллея корни+Душицы обыкновенной травы+Мать-и-мачехи обыкновенной листья; Аллея корни+Душицы обыкновенной травы+Мать-и-мачехи листья	Фитопектол® №1 (Грудной сбор №1); Грудной сбор №1	Сбор измельчённый; сбор растительный- сырье измельченное; сбор-порошок	Настой	Россия: АО "Красногорсклексредства ", ООО Фирма "Здоровье", ООО "Лек С+", ООО Фирма "Фито- Бот",	отхаркивающее средство растительного происхождения [5]
<i>Солодки корни</i>					

Продолжение Таблицы А.1

Алтея корни+Аниса обыкновенного плоды+Солодки корни+Сосны обыкновенной почки+Шалфея лекарственного листья	Грудной сбор №3	Сбор измельченный; сбор растительный- сырье измельченное	Настой	Россия: ООО Фирма "Здоровье"; ООО "Лек С+"; Лек С+ ООО	отхаркивающее средство растительного происхождения [5]
Валерианы лекарственной корневища с корнями+Мяты перечной листья+Пустырника трава+Солодки корни+Хмеля обыкновенного соплодия	Седативный сбор №2, Успокоительный сбор №2	Сбор измельчённый, сбор-порошок	Настой	Россия: АО "Красногорсклексредства ", ООО Фирма "Здоровье", ООО "Лек С+", АО "Иван-чай", АО "Ст.-Медифарм"	седативное средство растительного происхождения [5]
<i>Однокомпонентные лекарственные средства растительного происхождения</i>					
<i>Солодки корни</i>					
Солодки корней экстракт; солодки корни	Солодки сироп	Сироп	Сироп	Россия: ОАО "Ивановская фармацевтическая фабрика", ООО "Дансон- РУ", ООО "Тульская фармацевтическая фабрика", Общество с ограниченной ответственностью "ГЕО ОРГАНИКС"	препараты, применяемые при кашле и простудных заболеваниях; отхаркивающие средства, кроме комбинаций с противокашлевыми средствами; отхаркивающие средства [5]
<i>Многокомпонентные лекарственные средства растительного происхождения</i>					
<i>Солодки корни</i>					

Продолжение Таблицы А.1

Березы листья+Солодки корни+Шиповника коричного плоды+Эхинацеи пурпурной трава	Эхинокор	Эликсир для приема внутри	Эликсир для приема внутри	Россия: ЗАО "ФП "Мелиген"	иммуностимуляторы, другие иммуностимуляторы [5]
Аммиак+ Аниса плодов масло+Солодки корней экстракт	Грудной эликсир	Эликсир	Эликсир	Россия: ООО "Тульская фармацевтическая фабрика", Акционерное общество "Кировская фармацевтическая фабрика", ОАО "Тверская фармацевтическая фабрика", Ивановская фармацевтическая фабрика ОАО, АО "Актив", ООО "Формула-ФР", ЗАО "ЯФФ"	Препараты, применяемые при кашле и простудных заболеваниях; отхаркивающие средства, кроме комбинаций с противокашлевыми средствами; отхаркивающие средства; отхаркивающее средство растительного происхождения [5]
Аммония хлорид+Натрия бензоат+Натрия гидрокарбонат+Солодки корней экстракт+Термопсиса ланцетного травы экстракт	Микстура от кашля для взрослых сухая	Порошок для приготовления раствора для приема внутри	Порошок для приготовления раствора для приема внутри	Россия: ЗАО "ФП "Мелиген"; ЗАО "Московская фармацевтическая фабрика", ООО "Тульская фармацевтическая фабрика", ОАО "Ивановская фармацевтическая фабрика", ЗАО "ВИФИТЕХ"	Препараты, применяемые при кашле и простудных заболеваниях; отхаркивающие средства, кроме комбинаций с противокашлевыми средствами; отхаркивающие средства; отхаркивающее средство растительного происхождения [5]
Алтея лекарственного корней экстракт+Аммония хлорид+Натрия бензоат+Натрия	Микстура от кашля для детей сухая	Порошок для приготовления раствора для приема внутри	Порошок для приготовления раствора для приема внутри	Россия: ЗАО "Московская фармацевтическая фабрика", ООО "Тульская фармацевтическая фабрика", ОАО	препараты, применяемые при кашле и простудных заболеваниях; отхаркивающие средства, кроме комбинаций с

Продолжение Таблицы А.1

гидрокарбонат+Солодки корней экстракт				"Ивановская фармацевтическая фабрика", ООО "Атолл"	противокашлевыми средствами; отхаркивающие средства; отхаркивающее средство растительного происхождения [5]
Имбиря лекарственного корневищ экстракт+Солодки голой корней экстракт+Эмблики лекарственной плодов экстракт+Левоментол	Доктор Мом® растительные пастилки от кашля	Пастилки ягодные, пастилки фруктовые, пастилки малиновые, пастилки клубничные, пастилки ананасовые, пастилки апельсиновые пастилки, лимонные	Пастилки (апельсиновые, лимонные, малиновые, клубничные, ананасовые, фруктовые, ягодные)	Индия: Юник Фармасьютикал Лабораториз (Отделение фирмы Дж.Б.Кемикалс энд Фармасьютикалс Лтд)	отхаркивающее средство растительного происхождения [5]

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Грудной сбор №2 измельчённый для ФС

приготовления настоя

Pectorales species № 2

Взамен ФС

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Грудной сбор № 2, состоящий из мать-и-мачехи обыкновенной листьев – *Tussilago farfara* L., сем. астровых – *Asteraceae*, подорожника большого листьев – *Plantago major* L., сем. подорожниковых – *Plantaginaceae*, корней солодки голой – *Glycyrrhiza glabra* L. и солодки уральской – *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., сем. бобовых – *Fabaceae*, применяемый в качестве лекарственного растительного препарата.

Содержит:

- не менее 5,0 % суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в сухом сырье;
- не менее 4,0 % глицирризиновой кислоты в сухом сырье;
- не менее 25,0 % экстрактивных веществ, извлекаемых водой, в сухом сырье.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Внешние признаки. Определение проводят в соответствии с ОФС «Сборы».

Смесь неоднородных частиц растительного сырья серовато-зеленого цвета с желтыми, коричневато-желтыми, зеленовато-коричневыми и редкими зеленовато-фиолетовыми включениями, измельченных до размера 7 мм.

При исследовании с помощью лупы или стереомикроскопа должны быть видны:

- кусочки листьев, иногда с редкозубчатым краем и почти черными кончиками зубцов, голых и зеленых или желтовато-зеленых с извилисто-морщинистой поверхностью, иногда с коричневато-фиолетовыми или фиолетовыми пятнами с одной стороны и беловоолоочно-опушенных или голых (волоски опали при измельчении) с беловато-серой, зеленовато-серой, реже коричневато-желтой мелкоямчатой поверхностью с другой стороны; кусочки коричневато-зеленых и фиолетово-зеленых черешков (мать-и-мачехи обыкновенной листья);

- кусочки листовых пластинок от светло-зеленого до коричневато-зеленого цвета с неровной поверхностью и, редко, белесыми торчащими волосками; кусочки черешков светло-зеленого, желтовато-белого или белого цвета, часто с фиолетовым оттенком, на поперечном сечении которых могут быть видны черные дугообразные пятна (сосудисто-волокнистые пучки) (подорожника большого листья);

- кусочки корней различной формы, как правило, волокнистые, желтого, серовато-желтого, коричневато-желтого цвета, с остатками пробки серовато-коричневого или коричневого цвета (солодки корни).

Запах слабый.

Микроскопические признаки. Определение проводят в соответствии с ОФС «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения». При рассмотрении микропрепаратов должны быть видны:

- крупные многоугольные клетки эпидермиса верхней стороны листовой пластинки с прямыми или четковидно-утолщенными боковыми стенками; над жилками эпидермальные клетки вытянуты, остальные – изодиаметрические; кутикула толстая, морщинисто-складчатая, над жилками продольно-складчатая. Клетки нижнего эпидермиса с сильно извилистыми стенками; кутикула толстая, морщинисто-складчатая, над жилками продольно-складчатая; устьица крупные,

овальные, окруженные 4-8 клетками эпидермиса (аномоцитный тип), расположены на верхней и нижней стороне листа, с нижней стороны их больше (амфистоматический лист) и они погружены в мезофилл (погруженные устьица); углубления, в которых находятся устьица, прикрыты устьичными криптами (выросты эпидермиса) из 4-8 клеток. Вокруг устьиц заметна радиальная складчатость кутикулы. Под эпидермисом видна аэренхима. Клетки аэренхимы расположены однорядными цепочками, образующими крупные воздухоносные полости. Вдоль крупных жилок листа и черешка видны секреторные каналы со светло-желтым или коричневато-желтым содержимым. Верхняя сторона листа почти голая, нижняя – покрыта многочисленными простыми бичевидными волосками и волосками со спавшимися стенками. На верхнем эпидермисе видны места прикрепления волосков, вокруг которых клетки эпидермиса с почти прямыми стенками и радиальной складчатостью кутикулы, расположенные лучисто, образуют розетку. В центре розетки виден круглый валик. Бичевидные волоски состоят из короткого основания, образованного 3-6 небольшими клетками, и длинной конечной, шнуровидной, сильно извилистой клетки. Волоски переплетаются между собой. Встречаются фрагменты эпидермиса нижней стороны листа характерного строения, но без волосков (опали при измельчении), при этом видны округлые места их прикрепления (мать-и-мачехи обыкновенной листья, Рисунок Б.1);

- фрагменты эпидермиса верхней стороны листа из клеток с почти прямыми стенками, нижней – со слабоизвилистыми стенками; клетки эпидермиса над крупными жилками и черешка листа – продольно-вытянутые; кутикула местами складчатая; округлые устьица окружены 3-4 околоустьичными клетками (аномоцитный тип) – более многочисленные на нижней стороне листа; волоски – простые многоклеточные с расширенным основанием, иногда со спавшимися клетками; головчатые волоски, как правило, на одноклеточной ножке с удлинённой двухклеточной головкой и, реже, на многоклеточной ножке с шарообразной или овальной одноклеточной головкой, встречаются также головчатые волоски с 3- или 4-клеточной головкой, клетки последней часто с заостренными концами,

располагаются в 2 ряда (волоски могут быть обломаны и видны только округлые места их прикрепления); в местах прикрепления волосков клетки эпидермиса образуют розетку; фрагменты черешка, в которых проводящие пучки представлены спиральными и сетчатыми сосудами в сопровождении многочисленных неодревесневших волокон (подорожника большого листа, Рисунок Б.2);

- фрагменты тонкостенной паренхимы, состоящие из округлых или округло-многоугольных клеток, часто с группами призматических кристаллов оксалата кальция; группы волокон коры и древесины, обычно с кристаллоносной обкладкой; фрагменты луба с ситовидными трубками; фрагменты или группы сетчатых сосудов различного диаметра со щелевидными окаймлёнными порами, нередко в сопровождении пучков волокон (членики широких сосудов, как правило, короткие, бочковидные); фрагменты пробки, состоящие из нескольких слоев многоугольных клеток (солодки корня, Рисунок Б.3).

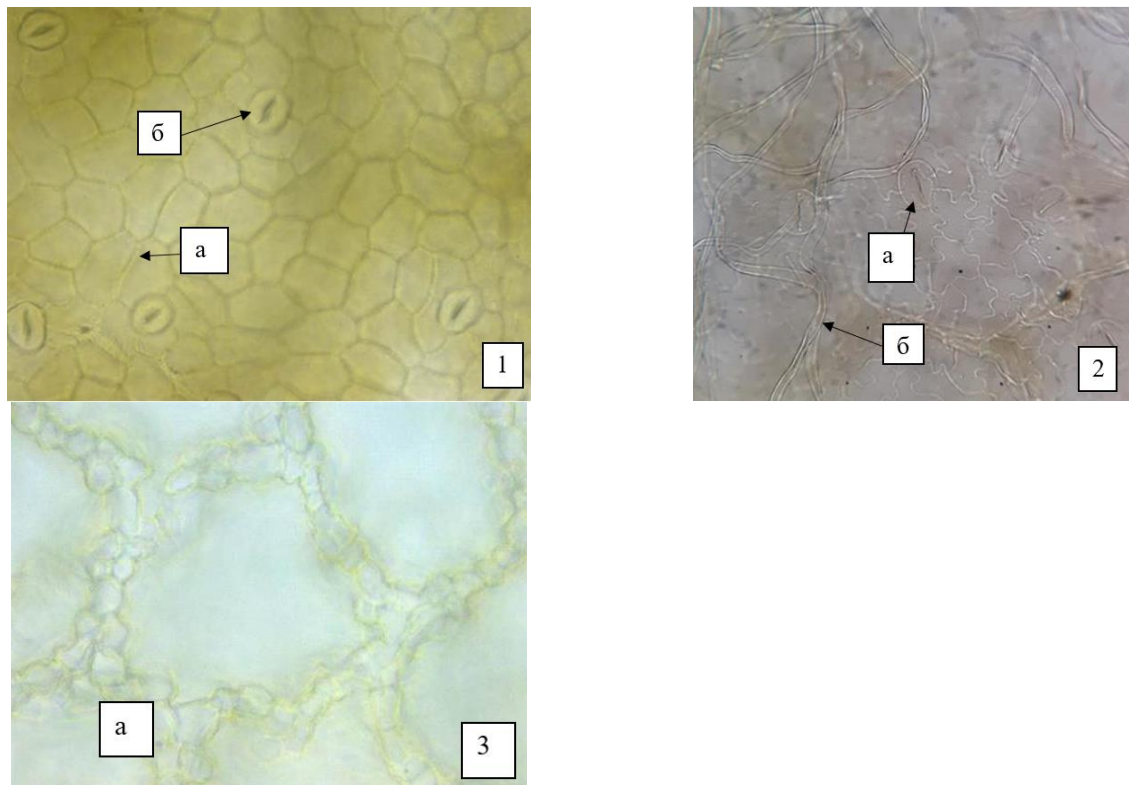


Рисунок Б.1 – Мать-и-мачехи обыкновенной листья, где 1 – фрагмент эпидермиса листа (верхняя сторона): складчатая кутикула по всей поверхности (а), устьица (б) (400×); 2 – фрагмент эпидермиса листа (нижняя сторона): устьица (а), шнуровидные конечные клетки волосков (б) (400×); 3 – мезенхима (а) (100×)

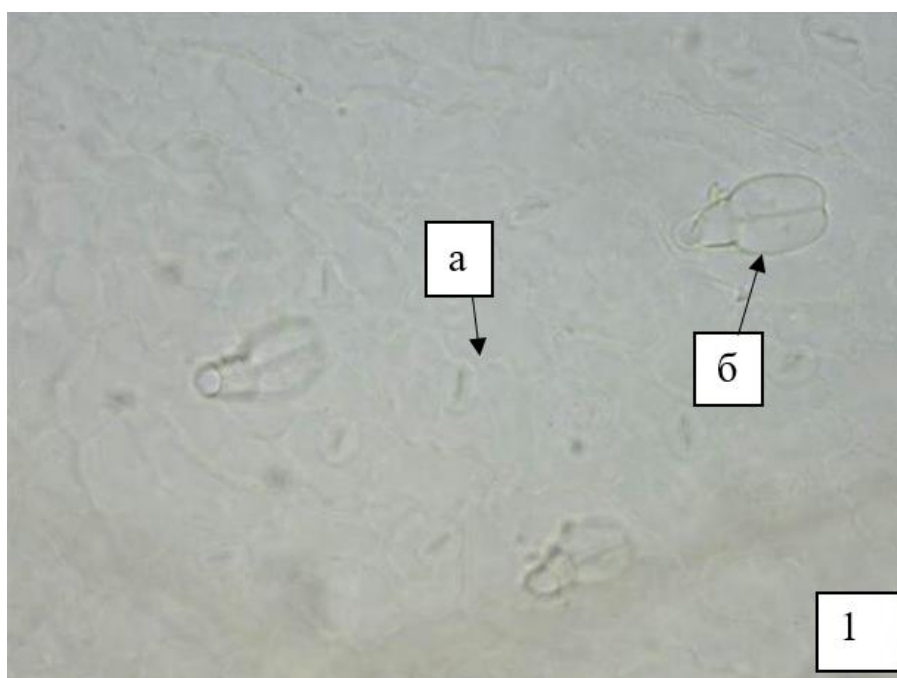


Рисунок Б.2 – Подорожника большого листа, где 1 – фрагмент эпидермиса листа (нижняя сторона): устьица (а), головчатые волоски (б) (400×)

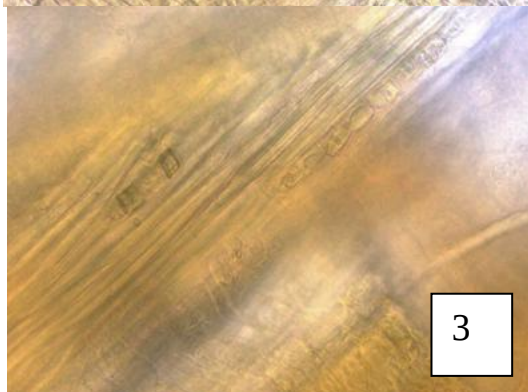
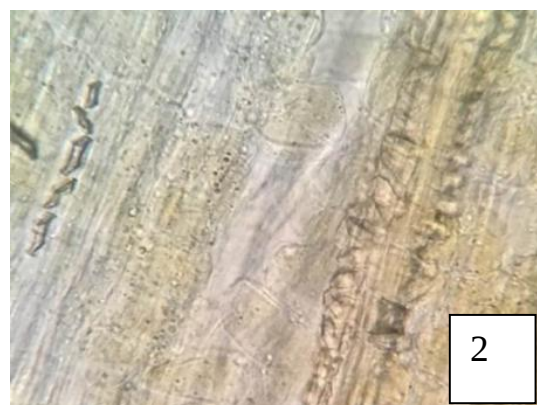
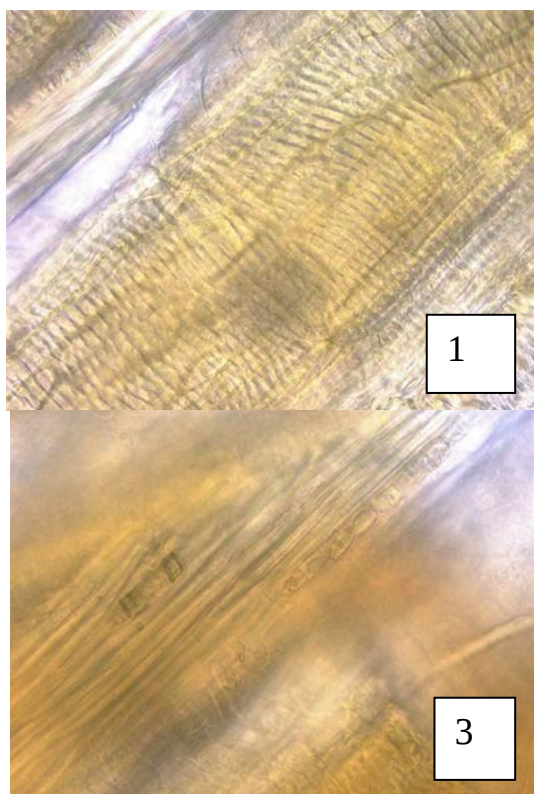


Рисунок Б.3 – Солодки корни, где 1 – сетчатые сосуды с окаймленными щелевидными порами с бочковидными члениками (400×); 2 – паренхима коры с призматическими кристаллами оксалата кальция солодки корней (400×); 3 – Механические волокна с кристаллоносной обкладкой солодки корней (400×)

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография

Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

Пластинка. ТСХ пластинка со слоем силикагеля F₂₅₄.

Подвижная фаза (ПФ). Этилацетат – муравьиная кислота – вода 40:4:6.

Испытуемый раствор. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1,0 г измельчённого сбора помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 %, нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр

Раствор стандартного образца рутина. Около 5 мг СО рутина растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес. при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Раствор стандартного образца лютеолина. Около 5 мг СО лютеолина растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Раствор стандартного образца хлорогеновой кислоты. Около 5 мг СО хлорогеновой кислоты растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес. при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Реактив для детектирования 1. Дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствор 1 % в спирте 96 %.

Реактив для детектирования 2. Макрогола 400 раствор спиртовой 5 %.

На линию старта пластинки в виде полос длиной 10 мм и шириной 2 мм наносят по 2 мкл раствора рутина, раствора лютеолина, раствора хлорогеновой кислоты и 10 мкл испытуемого раствора. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе в течение 10 мин, помещают в камеру, выложенную изнутри фильтровальной бумагой, предварительно насыщенную в течение 1 ч ПФ, и

хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80-90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры и сушат до удаления следов растворителей. Пластинку выдерживают при температуре 100-105 °С в течение 5-10 мин, еще тёплую обрабатывают последовательно реактивом для детектирования 1, затем реактивом для детектирования 2 и через 15 мин просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

Результат. На хроматограмме раствора рутина должна обнаруживаться зона адсорбции жёлтого или оранжево-жёлтого цвета.

На хроматограмме раствора лютеолина должна обнаруживаться зона адсорбции жёлтого цвета.

На хроматограмме раствора хлорогеновой кислоты должна обнаруживаться зона адсорбции голубого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зоны адсорбции жёлтого или жёлто-оранжевого цвета – на уровне зоны адсорбции рутина и выше неё; зона адсорбции на уровне зоны адсорбции лютеолина; зона адсорбции голубого цвета на уровне зоны адсорбции хлорогеновой кислоты; допускается обнаружение других зон адсорбции (фенольные соединения).

Качественная реакция

1. 1 г сбора, измельченного до размера 2 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 20 мл воды и кипятят в течение 2-3 мин. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр. При встряхивании фильтрата должно наблюдаться образование обильной и устойчивой пены (сапонины).

2. 1 г сбора помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл воды и кипятят в течение 0,5-1 мин. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр. К 1 мл фильтрата прибавляют 3 мл спирта 96 %, перемешивают и нагревают на водяной бане (60-70 °С) в течение 2-3 мин; должно наблюдаться образование творожистого осадка (полисахариды).

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. Не более 13,0 % (ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»).

Зола общая. Не более 18,0 % (ОФС «Зола общая»).

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Не более 10,0 % (ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»).

Измельчённость. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм. Не более 5,0 %.

Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Не более 6,0 %.

Допустимые примеси. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Органическая примесь. Не более 1,5 %.

Минеральная примесь. Не более 1,5 %.

Тяжёлые металлы и мышьяк. В соответствии с ОФС «Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

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

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

Заражённость вредителями запасов. В соответствии с ОФС «Определение степени заражённости лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов вредителями запасов».

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Антрон-сернистый реактив. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,20 г антрона, прибавляют серную кислоту, свободную от азота, или смесь серная кислота, свободная от азота, – вода (19:1), тщательно перемешивают и помещают в темное место до полного растворения. До использования раствор выдерживают после приготовления не менее 4 ч. Срок годности при хранении в темном месте при температуре 6-8 °С не более 7 сут.

Исходный раствор. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито 2 мм. В коническую колбу помещают 2,0 г (точная навеска) измельчённого сырья, добавляют 30 мл воды, доведённой до кипения, и кипятят с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Горячее извлечение фильтруют через 5 слоёв марли или через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл. Марлю (вату) с сырьём помещают в ту же коническую колбу и повторяют экстракцию в описанных выше условиях ещё два раза. Полученные извлечения объединяют и доводят объём полученного раствора водой до метки (раствор А).

В коническую колбу помещают 25 мл полученного раствора, прибавляют 75 мл спирта 96%, перемешивают и нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Полученный раствор фильтруют под вакуумом через сухой бумажный фильтр, вложенный в воронку Бюхнера, промывают последовательно 15 мл смеси вода-спирт 96% (1:3) и 10 мл смеси

этилацетат-спирт 96% (1:1). Осадок высушивают на воздухе в течение 2 мин, растворяют в 30 мл горячей воды, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора водой до метки (раствор Б).

Испытуемый раствор. В колбу помещают 1 мл полученного раствора, прибавляют 2 мл антронового реактива и немедленно охлаждают при температуре 2-8 °С в течение 5 мин, затем нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин и охлаждают.

Раствор СО глюкозы. Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца глюкозы безводной растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 250 мл, доводят объём раствора водой до метки, перемешивают. В колбу помещают 1 мл полученного раствора, прибавляют 2 мл антронового реактива и немедленно охлаждают при температуре 2-8 °С в течение 5 мин, затем нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин и охлаждают.

Раствор сравнения. В колбу помещают 1 мл воды, прибавляют 2 мл антронового реактива и немедленно охлаждают при температуре 2-8 °С в течение 5 мин, затем нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин и охлаждают.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения 627 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Параллельно измеряют оптическую плотность испытуемого раствора стандартного образца глюкозы в указанных выше условиях относительно раствора сравнения.

Суммарное содержание восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a_1 \cdot 25 \cdot 250 \cdot (100 - W) \cdot 100},$$

где: A_1 — оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 — оптическая плотность раствора стандартного образца глюкозы;

a_1 — навеска сырья, г;

a_0 — навеска стандартного образца глюкозы, г;

W — влажность сырья, %;

P — чистота стандартного образца глюкозы, %.

Глицирризиновая кислота. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Исходный раствор. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 2,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу вместимостью 150 мл, прибавляют 20 мл ацетонового раствора азотной кислоты 3 % и смесь оставляют на 1 ч при частом и сильном перемешивании. Извлечение фильтруют в цилиндр вместимостью 100 мл и промывают 10 мл ацетона и фильтруют через тот же фильтр. В колбу с сырьем прибавляют еще 20 мл ацетона, которым одновременно смывают сырье с фильтра, и смесь кипятят с обратным холодильником на водяной бане в течение 5 мин. Извлечение фильтруют через тот же фильтр в тот же цилиндр. Экстракцию горячим ацетоном повторяют, таким образом, еще 2 раза, промывают ацетоном до тех пор, пока объем в цилиндре не достигнет 100 мл. Извлечение из цилиндра выливают в стакан вместимостью 200 мл. Цилиндр ополаскивают 40 мл спирта, который затем выливают в тот же стакан. Далее по каплям при интенсивном помешивании добавляют аммиака концентрированный раствор до появления обильного светло желтого творожистого осадка (рН 8,3-8,6 устанавливают потенциометрически или по порозовению влажной фенолфталеиновой бумаги). Осадок вместе с маточной жидкостью переносят на фильтр, помещённый в воронку Бюхнера, и жидкость отсасывают. Стакан и фильтр с осадком промывают 50 мл ацетона в 3-4 приема. Осадок с фильтром переносят в стакан, в котором производилось осаждение, и растворяют в 50 мл воды. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл. Фильтр несколько раз промывают небольшими порциями воды и присоединяют их к основному раствору. Доводят объем раствора до метки (раствор А).

Испытуемый раствор. 3,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки.

Оптическую плотность испытуемого измеряют на спектрофотометре при длине волны 258 нм в кювете с толщиной слоя в 10 мм, в качестве раствора сравнения используют воду.

Содержание глицирризиновой кислоты в сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 822 \cdot 250 \cdot 50 \cdot 100}{a \cdot 3 \cdot 11000 \cdot 1000} = \frac{A \cdot 3425}{a \cdot 110}$$

где: А — оптическая плотность раствора Б;

а — навеска сырья, г;

822 — навеска молекулярный вес глицирризиновой кислоты;

11000 — молярный показатель поглощения.

Экстрактивные вещества. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (навеска сбора — 1,0 г, экстрагент — вода, центрифугирование водного извлечения при 4000 об/мин в течение 15 мин).

УПАКОВКА, МАРКИРОВКА И ПЕРЕВОЗКА

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

ХРАНЕНИЕ

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

Ассистент

кафедры фармацевтического естествознания

В.В. Чевидаев

Научный руководитель

к.ф.н., доцент, доцент кафедры

фармацевтического естествознания

Д.О. Боков

ПРИЛОЖЕНИЕ В

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Грудной сбор №2 сбор-порошок для приготовления настоя <i>Pectorales species № 2</i>	ФС Взамен ФС
---	---------------------

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Грудной сбор № 2, состоящий из мать-и-мачехи обыкновенной листьев – *Tussilago farfara* L., сем. астровых – *Asteraceae*, подорожника большого листьев – *Plantago major* L., сем. подорожниковых – *Plantaginaceae*, корней солодки голой – *Glycyrrhiza glabra* L. и солодки уральской – *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., сем. бобовых – *Fabaceae*, применяемый в качестве лекарственного растительного препарата.

Содержит:

- не менее 5,0 % суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в сухом сырье;
- не менее 4,0 % глицирризиновой кислоты в сухом сырье;
- не менее 25,0 % экстрактивных веществ, извлекаемых водой, в сухом сырье.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Внешние признаки. Определение проводят в соответствии с ОФС «Сборы».

Смесь неоднородных частиц растительного сырья серовато-зеленого, беловато-зеленого и зеленого цвета с беловатыми, желто-белыми, желтыми, серыми, серовато-коричневыми, зеленовато-коричневыми, коричневатожелтыми и коричневыми вкраплениями, измельченных до размера 2 мм.

При исследовании с помощью лупы или стереомикроскопа должны быть видны кусочки корней, листьев, черешков:

- кусочки листьев голых и зеленых или желтовато-зеленых с извилисто-морщинистой поверхностью, иногда с коричневато-фиолетовыми или фиолетовыми пятнами с одной стороны и беловато-серой, зеленовато-серой, реже коричневато-желтой мелкоямчатой поверхностью с другой стороны; кусочки коричневато-зеленых и фиолетово-зеленых черешков (мать-и-мачехи обыкновенной листья);

- кусочки листовых пластинок от светло-зеленого до коричневато-зеленого цвета с неровной поверхностью и, редко, белесыми торчащими волосками, кусочки черешков светло-зеленого, желтовато-белого или белого цвета, часто с фиолетовым оттенком, на поперечном сечении которых могут быть видны черные дугообразные пятна (сосудисто-волокнистые пучки) (подорожника большого листья);

- кусочки корней различной формы, как правило, волокнистые, желтого, серовато-желтого, коричневато-желтого цвета, с остатками пробки серовато-коричневого или коричневого цвета (солодки корни).

Запах слабый.

Микроскопические признаки. Определение проводят в соответствии с ОФС «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения». При рассмотрении микропрепаратов должны быть видны:

- крупные многоугольные клетки эпидермиса верхней стороны листовой пластинки с прямыми или четковидно-утолщенными боковыми стенками; над жилками эпидермальные клетки вытянуты, остальные – изодиаметрические; кутикула толстая, морщинисто-складчатая, над жилками продольно-складчатая. Клетки нижнего эпидермиса с сильно извилистыми стенками; кутикула толстая, морщинисто-складчатая, над жилками продольно-складчатая; устьица крупные, овальные, окруженные 4-8 клетками эпидермиса (аномоцитный тип), расположены

на верхней и нижней стороне листа, с нижней стороны их больше (амфистоматический лист) и они погружены в мезофилл (погруженные устьица); углубления, в которых находятся устьица, прикрыты устьичными криптами (выросты эпидермиса) из 4-8 клеток. Вокруг устьиц заметна радиальная складчатость кутикулы. Под эпидермисом видна аэренхима. Клетки аэренхимы расположены однорядными цепочками, образующими крупные воздухоносные полости. Вдоль крупных жилок листа и черешка видны секреторные каналы со светло-желтым или коричневато-желтым содержимым. Верхняя сторона листа почти голая, нижняя – покрыта многочисленными простыми бичевидными волосками и волосками со спавшимися стенками. На верхнем эпидермисе видны места прикрепления волосков, вокруг которых клетки эпидермиса с почти прямыми стенками и радиальной складчатостью кутикулы, расположенные лучисто, образуют розетку. В центре розетки виден круглый валик. Бичевидные волоски состоят из короткого основания, образованного 3-6 небольшими клетками, и длинной конечной, шнуровидной, сильно извилистой клетки. Волоски переплетаются между собой. Встречаются фрагменты эпидермиса нижней стороны листа характерного строения, но без волосков (опали при измельчении), при этом видны округлые места их прикрепления (мать-и-мачехи обыкновенной листья, Рисунок В.1);

- фрагменты эпидермиса верхней стороны листа из клеток с почти прямыми стенками, нижней – со слабоизвилистыми стенками; клетки эпидермиса над крупными жилками и черешка листа – продольно-вытянутые; кутикула местами складчатая; округлые устьица окружены 3-4 околоустьичными клетками (аномоцитный тип) - более многочисленные на нижней стороне листа; волоски – простые многоклеточные с расширенным основанием, иногда со спавшимися клетками; головчатые волоски, как правило, на одноклеточной ножке с удлинённой двухклеточной головкой и, реже, на многоклеточной ножке с шарообразной или овальной одноклеточной головкой, встречаются также головчатые волоски с 3- или 4-клеточной головкой, клетки последней часто с заостренными концами, располагаются в 2 ряда (волоски могут быть обломаны и видны только округлые

места их прикрепления); в местах прикрепления волосков клетки эпидермиса образуют розетку; фрагменты черешка, в которых проводящие пучки представлены спиральными и сетчатыми сосудами в сопровождении многочисленных неодревесневших волокон (подорожника большого листа, Рисунок В.2);

- фрагменты тонкостенной паренхимы, состоящие из округлых или округло-многоугольных клеток, часто с группами призматических кристаллов оксалата кальция; группы волокон коры и древесины, обычно с кристаллоносной обкладкой; фрагменты луба с ситовидными трубками; фрагменты или группы сетчатых сосудов различного диаметра со щелевидными окаймленными порами, нередко в сопровождении пучков волокон (членики широких сосудов, как правило, короткие, бочковидные); фрагменты пробки, состоящие из нескольких слоев многоугольных клеток (солодки корни, Рисунок В.3).

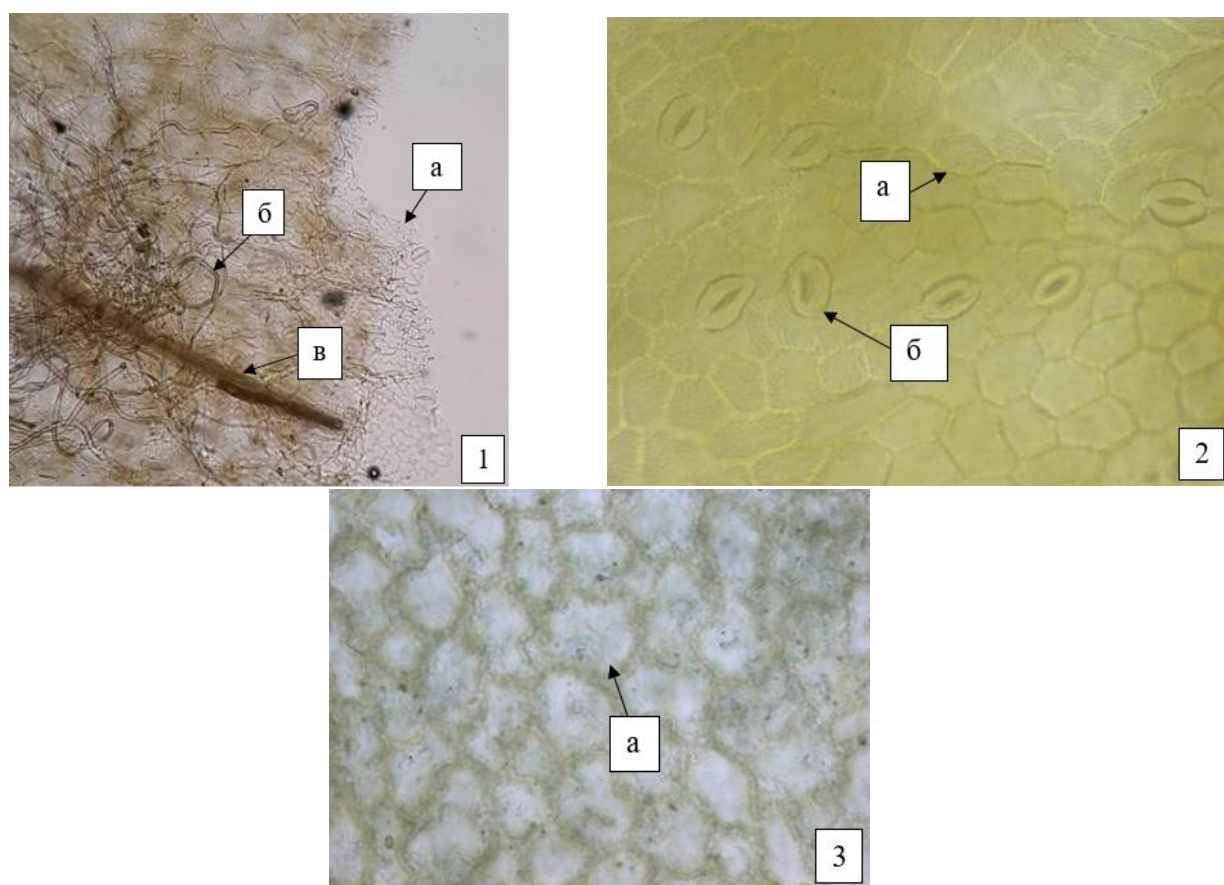


Рисунок В.1 – Мать-и-мачехи обыкновенной листья, где 1 – фрагмент эпидермиса листа (нижняя сторона): устьица (а), шнуровидные конечные клетки волосков (б), секреторный канал вдоль крупной жилки листа (в) (40×); 2 – фрагмент эпидермиса листа (верхняя сторона): складчатая кутикула по всей поверхности (а), устьица (б) (400×); 3 – аэренхима (а) (100×)

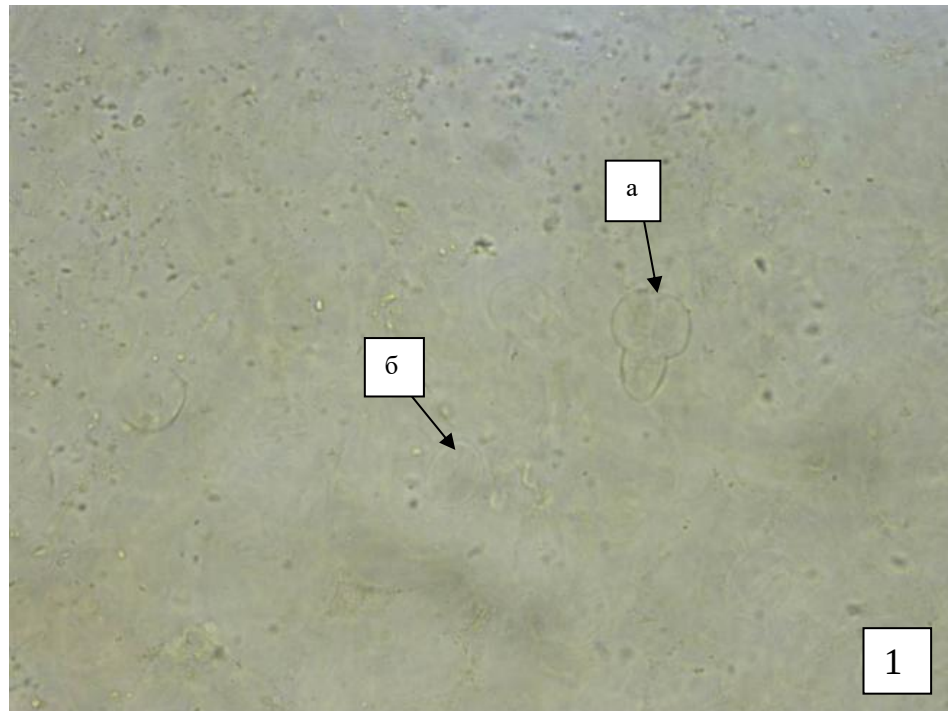


Рисунок В.2 – Подорожника большого листья, где 1 – фрагмент эпидермиса нижней стороны листа: а - устьичный комплекс аномоцитного типа, б – головчатый волосок (400×)

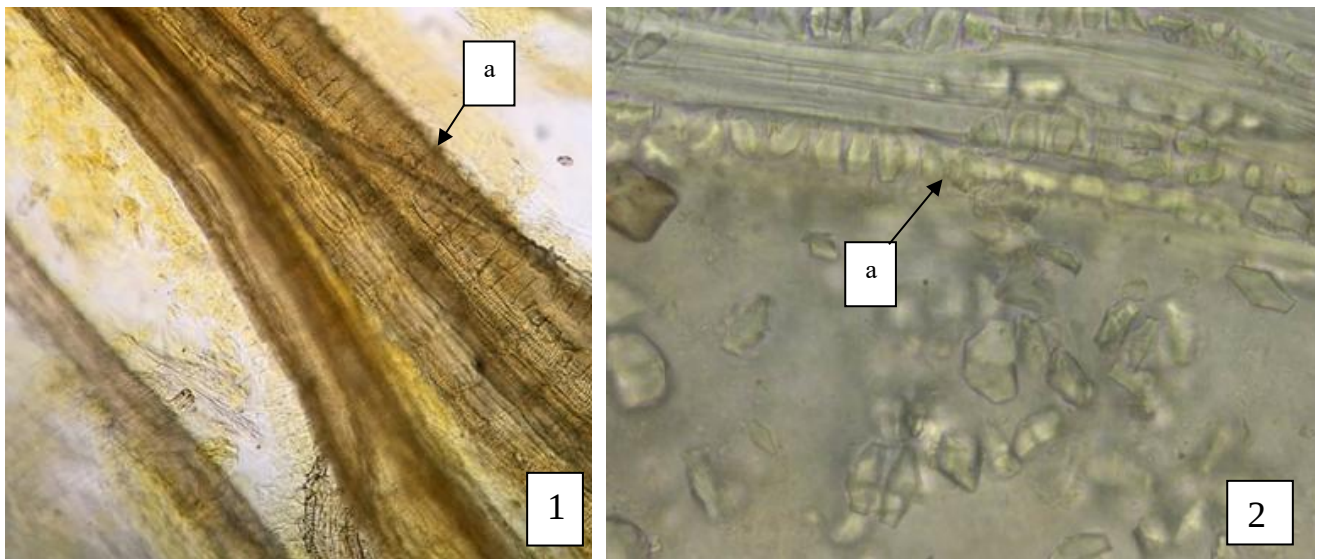


Рисунок В.3 – Солодки корни, где 1 – сетчатые сосуды с окаймленными щелевидными порами с бочковидными члениками (400×); 2 – волокна древесины с кристаллоносной обкладкой (400×)

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография

Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

Пластика. ТСХ пластинка со слоем силикагеля F₂₅₄.

Подвижная фаза (ПФ). этилацетат-муравьиная кислота-вода 40:4:6.

Испытуемый раствор. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1,0 г измельченного сбора помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 %, нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр

Раствор стандартного образца рутина. Около 5 мг СО рутина растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес. при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Раствор стандартного образца лютеолина. Около 5 мг СО лютеолина растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Раствор стандартного образца хлорогеновой кислоты. Около 5 мг СО хлорогеновой кислоты растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес. при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Реактив для детектирования 1. Дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствор 1 % в спирте 96 %.

Реактив для детектирования 2. Макрогола 400 раствор спиртовой 5 %.

На линию старта пластинки в виде полос длиной 10 мм и шириной 2 мм наносят по 2 мкл раствора рутина, раствора лютеолина, раствора хлорогеновой кислоты и 10 мкл испытуемого раствора. Пластику с нанесёнными пробами сушат на воздухе в течение 10 мин, помещают в камеру, выложенную изнутри фильтровальной бумагой, предварительно насыщенную в течение 1 ч ПФ, и

хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры и сушат до удаления следов растворителей. Пластинку выдерживают при температуре 100–105 °С в течение 5–10 мин, еще тёплую обрабатывают последовательно реактивом для детектирования 1, затем реактивом для детектирования 2 и через 15 мин просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

Результат. На хроматограмме раствора рутина должна обнаруживаться зона адсорбции жёлтого или оранжево-жёлтого цвета.

На хроматограмме раствора лютеолина должна обнаруживаться зона адсорбции жёлтого цвета.

На хроматограмме раствора хлорогеновой кислоты должна обнаруживаться зона адсорбции голубого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зоны адсорбции жёлтого или жёлто-оранжевого цвета – на уровне зоны адсорбции рутина и выше неё; зона адсорбции на уровне зоны адсорбции лютеолина; зона адсорбции голубого цвета на уровне зоны адсорбции хлорогеновой кислоты; допускается обнаружение других зон адсорбции (фенольные соединения).

Качественная реакция

1. 1 г сбора, измельченного до размера 2 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 20 мл воды и кипятят в течение 2-3 мин. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр. При встряхивании фильтрата должно наблюдаться образование обильной и устойчивой пены (сапонины).

2. 1 г сбора помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл воды и кипятят в течение 0,5-1 мин. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр. К 1 мл фильтрата прибавляют 3 мл спирта 96 %, перемешивают и нагревают на водяной бане (60-70 °С) в течение 2-3 мин; должно наблюдаться образование творожистого осадка (полисахариды).

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. Не более 13,0 % (ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»).

Зола общая. Не более 18,0 % (ОФС «Зола общая»).

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Не более 8,0 % (ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»).

Измельчённость. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Не более 3,0 %.

Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм. Не более 5,0 %.

Допустимые примеси. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Органическая примесь. Не более 1,5 %.

Минеральная примесь. Не более 1,5 %.

Тяжёлые металлы и мышьяк. В соответствии с ОФС «Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

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

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

Заражённость вредителями запасов. В соответствии с ОФС «Определение степени заражённости лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов вредителями запасов».

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Антрон-сернистый реактив. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,20 г антрона, прибавляют серную кислоту, свободную от азота, или смесь серная кислота, свободная от азота, – вода (19:1), тщательно перемешивают и помещают в темное место до полного растворения. До использования раствор выдерживают после приготовления не менее 4 ч. Срок годности при хранении в темном месте при температуре 6 – 8 °С не более 7 сут.

Исходный раствор. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито 2 мм. В коническую колбу помещают 2,0 г (точная навеска) измельчённого сырья, добавляют 30 мл воды, доведённой до кипения, и кипятят с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Горячее извлечение фильтруют через 5 слоёв марли или через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл. Марлю(вату) с сырьём помещают в ту же коническую колбу и повторяют экстракцию в описанных выше условиях ещё два раза. Полученные извлечения объединяют и доводят объём полученного раствора водой до метки (раствор А).

В коническую колбу помещают 25 мл полученного раствора, прибавляют 75 мл спирта 96%, перемешивают и нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Полученный раствор фильтруют под вакуумом через сухой бумажный фильтр, вложенный в воронку Бюхнера, промывают последовательно 15 мл смеси вода-спирт 96% (1:3) и 10 мл смеси

этилацетат-спирт 96% (1:1). Осадок высушивают на воздухе в течение 2 мин, растворяют в 30 мл горячей воды, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора водой до метки (раствор Б).

Испытуемый раствор. В колбу помещают 1 мл полученного раствора, прибавляют 2 мл антронового реактива и немедленно охлаждают при температуре 2-8 °С в течение 5 мин, затем нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин и охлаждают.

Раствор СО глюкозы. Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца глюкозы безводной растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 250 мл, доводят объём раствора водой до метки, перемешивают. В колбу помещают 1 мл полученного раствора, прибавляют 2 мл антронового реактива и немедленно охлаждают при температуре 2-8 °С в течение 5 мин, затем нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин и охлаждают.

Раствор сравнения. В колбу помещают 1 мл воды, прибавляют 2 мл антронового реактива и немедленно охлаждают при температуре 2-8 °С в течение 5 мин, затем нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин и охлаждают.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения 627 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Параллельно измеряют оптическую плотность испытуемого раствора стандартного образца глюкозы в указанных выше условиях относительно раствора сравнения.

Суммарное содержание восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a_1 \cdot 25 \cdot 250 \cdot (100 - W) \cdot 100},$$

где A_1 — оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 — оптическая плотность раствора стандартного образца глюкозы;

a_1 — навеска сырья, г;

a_0 — навеска стандартного образца глюкозы, г;

W – влажность сырья, %;

P – чистота стандартного образца глюкозы, %.

Глицирризиновая кислота. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Исходный раствор. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 2,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу вместимостью 150 мл, прибавляют 20 мл ацетонового раствора азотной кислоты 3 % и смесь оставляют на 1 ч при частом и сильном перемешивании. Извлечение фильтруют в цилиндр вместимостью 100 мл и промывают 10 мл ацетона и фильтруют через тот же фильтр. В колбу с сырьем прибавляют еще 20 мл ацетона, которым одновременно смывают сырье с фильтра, и смесь кипятят с обратным холодильником на водяной бане в течение 5 мин. Извлечение фильтруют через тот же фильтр в тот же цилиндр. Экстракцию горячим ацетоном повторяют, таким образом, еще 2 раза, промывают ацетоном до тех пор, пока объем в цилиндре не достигнет 100 мл. Извлечение из цилиндра выливают в стакан вместимостью 200 мл. Цилиндр ополаскивают 40 мл спирта, который затем выливают в тот же стакан. Далее по каплям при интенсивном помешивании добавляют аммиака концентрированный раствор до появления обильного светло желтого творожистого осадка (рН 8,3-8,6 устанавливают потенциометрически или по порозовению влажной фенолфталеиновой бумаги). Осадок вместе с маточной жидкостью переносят на фильтр, помещенный в воронку Бюхнера, и жидкость отсасывают. Стакан и фильтр с осадком промывают 50 мл ацетона в 3-4 приема. Осадок с фильтром переносят в стакан, в котором производилось осаждение, и растворяют в 50 мл воды. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл. Фильтр несколько раз промывают небольшими порциями воды и присоединяют их к основному раствору. Доводят объем раствора до метки (раствор А).

Испытуемый раствор. 3,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки.

Оптическую плотность испытуемого измеряют на спектрофотометре при длине волны 258 нм в кювете с толщиной слоя в 10 мм, в качестве раствора сравнения используют воду.

Содержание глицирризиновой кислоты в сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 822 \cdot 250 \cdot 50 \cdot 100}{a \cdot 3 \cdot 11000 \cdot 1000} = \frac{A \cdot 3425}{a \cdot 110},$$

где: А – оптическая плотность раствора Б;

а – навеска сырья, г;

822 – молекулярный вес глицирризиновой кислоты;

11000 – молярный показатель поглощения.

Экстрактивные вещества. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (навеска сбора – 1,0 г, экстрагент – вода, центрифугирование водного извлечения при 4000 об/мин в течение 15 мин).

УПАКОВКА, МАРКИРОВКА И ПЕРЕВОЗКА

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

ХРАНЕНИЕ

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

Ассистент

кафедры фармацевтического естествознания

В.В. Чевидаев

Научный руководитель

к.ф.н., доцент, доцент кафедры
фармацевтического естествознания

Д.О. Боков

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени
И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)



Т.М. Литвинова

« 20 _____ г.

АКТ: 544

20 НОЯ 2024

о внедрении результатов диссертации Чевидасева Владимира Викторовича
в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания
Института фармации имени А.П. Нелюбина
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Чевидасева Владимира Викторовича на тему «Совершенствование подходов к стандартизации грудного сбора №2» внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания при изучении дисциплины фармакогнозия и используются при проведении практических занятий в рамках образовательной программы школы мастерства «Высокотехнологичные методы микроскопического и фитохимического анализа лекарственных растительных препаратов» читаемых студентам по направлению подготовки (специальности) 33.06.01 Фармация (3.4.2. – Фармацевтическая химия, фармакогнозия).

Директор Института фармации
имени А.П. Нелюбина

Раменская Г.В.

Заведующий кафедрой
фармацевтического естествознания
Института фармации имени А.П. Нелюбина

Луферов А.Н.

Заведующий учебной частью кафедры
фармацевтического естествознания
Института фармации имени А.П. Нелюбина

Бобкова Н.В.

Начальник Учебного управления

Юдина Л.Ю.

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени
И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)



Т.М. Литвинова

20 г.

20 НОЯ 2024

АКТ 548

о внедрении результатов диссертации Чевидаева Владимира Викторовича
в учебный процесс кафедры аналитической, физической и коллоидной химии
Института фармации имени А.П. Нелюбина
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Чевидаева Владимира Викторовича на тему «Совершенствование подходов к стандартизации грудного сбора №2» внедрены в учебный процесс кафедры аналитической, физической и коллоидной химии при чтении лекций, подготовке учебных материалов и проведении семинаров для студентов по направлению подготовки (специальности) 33.06.01 Фармация (3.4.2. – Фармацевтическая химия, фармакогнозия) Института фармации имени А.П. Нелюбина.

Директор Института фармации
имени А.П. Нелюбина

Раменская Г.В.

Заведующий кафедрой
аналитической, физической и коллоидной химии
Института фармации имени А.П. Нелюбина

Краснюк И.И. (мл.)

Заведующий учебной частью кафедры
аналитической, физической и коллоидной химии
Института фармации имени А.П. Нелюбина

Плахотная О.Н.

Начальник Учебного управления

Юдина Л.Ю.

ПРИЛОЖЕНИЕ Е



Общество с ограниченной ответственностью «Сайнтифик Комплайнс»

ОГРН 1237700156099, ИНН 9728089480, КПП 772701001

Юр. адрес: 117149, город Москва, Симферопольский б-р, д. 8, помещ. 1/4



Исх. №48-24

АКТ

внедрения результатов научно-исследовательской работы

Мы, нижеподписавшиеся, заведующий Аналитической Лабораторией (АЛ) ООО «СК» Медведев Юрий Владимирович и директор Центра Научных Разработок (ЦНР) ООО «СК» Суворова Александра Вадимовна удостоверяем факт внедрения методики количественного определения восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу в абсолютно сухом сырье методом дифференциальной спектрофотометрии в многокомпонентном лекарственном растительном препарате грудном сборе №2, его компонентах и водных извлечениях на их основе. Данная методика была разработана в ходе выполнения научно-исследовательской работы по теме: «Совершенствование подходов к стандартизации грудного сбора №2» ассистентом кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) Чевидаемым Владимиром Викторовичем.

Данная методика используется для оценки качества сырья лекарственных растений в ООО «СК».

Заведующий аналитической
лабораторией ООО «СК»,
к. фарм. н., Медведев Ю. В.

1. Медведев Ю.В.

Директор ЦНР ООО «СК»
Суворова А. В.

А.В. Суворова

