*На правах рукописи*

**Смыслова Ольга Александровна**

# ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ И СТАНДАРТИЗАЦИИ КОМПЛЕКСНОГО УРОЛОГИЧЕСКОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА

**14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия**

## АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени**

**кандидата фармацевтических наук**

Москва – 2018

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

**Научный руководитель:**

кандидат фармацевтических наук,
доцент **Литвинова Татьяна Михайловна**

**Официальные оппоненты:**

**Лякина Марина Николаевна** – доктор фармацевтических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Центр фармакопеи и международного сотрудничества, главный научный сотрудник
**Потанина Ольга Георгиевна** – доктор фармацевтических наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», Центр научных исследований и разработок Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), директор

**Ведущая организация:**

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

Защита состоится «_____» _____ 2018 года в 14.00 часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.040.09 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119019, г. Москва, Никитский бульвар, д. 13.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, ул. Зубовский бульвар, д.37/1 и на сайте организации: http://sechenov.ru/

Автореферат разослан «_____» _____2018 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета Д 208.040.09
доктор фармацевтических наук, профессор **Демина Наталья Борисовна**

# ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования**

Согласно данным медицинской статистики в последние десятилетия наблюдается постоянный рост урологической заболеваемости населения, что связано с одной из основных причин – недостаточной эффективностью системы профилактики и предотвращения заболеваний.

В структуре урологических заболеваний одно из ведущих мест занимает мочекаменная болезнь (МКБ, уролитиаз).

Мочекаменная болезнь приводит к длительной потере трудоспособности и инвалидизации населения. Кроме того, характерной особенностью заболевания является высокая частота рецидивов. Эффективная терапия и профилактика МКБ включает методы воздействия, направленные на устранение этиологических факторов болезни и патогенетических условий камнеобразования. Для профилактики заболеваний мочевыводящих путей, а также в качестве эффективной составляющей консервативного лечения, особый интерес представляют многокомпонентные средства на основе фармацевтических субстанций растительного происхождения, сборы, обладающие комплексным действием на этиопатогенез заболевания. Растительные сборы отличаются мягким действием, отсутствием побочных эффектов, что делает возможным их длительное применение для обеспечения многонаправленного действия при хроническом течении МКБ.

На сегодняшний день в Государственном реестре лекарственных средств зарегистрированы 6 растительных сборов, которые рекомендованы в комплексной терапии урологических заболеваний. Но растительных композиций, предназначенных для консервативного лечения и профилактики мочекаменной болезни, зарегистрированных и официально разрешенных, нет. Таким образом, имеется потребность в расширении ассортимента комплексных растительных препаратов российского производства, что позволит обеспечить индивидуальный подход к выбору фармакотерапии заболеваний мочевыводящих путей и расширить возможности консервативного лечения мочекаменной болезни.

Поэтому разработка и внедрение оригинального сбора, предназначенного для консервативного лечения и профилактики мочекаменной болезни, является актуальной задачей.

**Степень разработки темы исследования**

Разработкой многокомпонентных растительных сборов, предназначенных для профилактики и лечения группы инфекционно-воспалительных заболеваний мочевыводящих путей, занимались О.А. Елецкая, М.В. Бабаева, А.Д. Таляль. Анализ литературных данных показал, что имеются сведения об изучении доклинических исследований растительной композиции, предназначенной для превентивной терапии уролитиаза (И.С. Бутуханова), без проведения фармакогностических исследований.

В настоящий момент сбор для консервативного лечения и предупреждения мочекаменной болезни отсутствует, что делает разработку и исследование актуальным.

**Цель и задачи исследования**

Целью исследования диссертационной работы является разработка и стандартизация комплексного урологического растительного средства.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. Провести информационно-аналитического исследование урологических лекарственных средств;
2. Обосновать состав растительных компонентов и оптимальное их соотношение в сборе;
3. Провести фармакогностическое исследование растительного сбора (изучение внешних и микроскопических признаков, числовых показателей, методик качественного и количественного анализа);
4. Получить экстракт сухой на основе изучаемого сбора и провести изучение состава БАВ;
5. Разработать методики оценки количественного содержания суммы флавоноидов в сборе и экстракте сухом;
6. Определить показатели качества сбора, экстракта сухого и установить их нормы;
7. Провести изучение специфической фармакологической активности комплексного урологического сбора *in vivo* на экспериментальной модели мочекаменной болезни;
8. На основании результатов исследования разработать проект НД на комплексный урологический сбор - «Фитоурол».

**Научная новизна**

На основании данных обзора литературных источников, фармакологических и фитохимических исследований впервые был обоснован состав и оптимальное соотношение компонентов сбора «Фитоурол», включающего пять видов растительного сырья: брусники листья, хвоща полевого трава, лопуха корни, укропа огородного плоды, полыни обыкновенной трава.

С использованием различных методик *in vivo*, впервые установлено, что водное извлечение комплексного урологического растительного средства в экспериментально-терапевтической дозе обладает выраженной фармакотерапевтической эффективностью при экспериментальном уролитиазе, индуцированным внутрижелудочным введением витамина $Д_2$, способствуя нормализации морфофункционального состояния почек лабораторных животных на стадиях патологического процесса.

С применением современных инструментальных физико-химических методов (ТСХ, ВЭЖХ, СФМ) в сборе идентифицированы: флавоноиды (рутин, гиперозид, лютеолин, лютеолин-7-гликозид, кверцетин, нарингенин), фенологликозид (арбутин), фенолкарбоновые кислоты (галловая, эллаговая), гидроксикоричные кислоты (хлорогеновая, феруловая, неохлорогеновая, изоферуловая, кофейная, цикориевая, коричная), свободные сахара (фруктоза, сахароза, глюкоза), производные дубильных веществ (эпикатехин, катехин, эпигаллокатехингаллат), кумарины (дикумарин, метоксикумарин) и органические кислоты (янтарная, щавелевая); исследован компонентный состав эфирного масла сбора; проведено определение содержания: экстрактивных веществ, флавоноидов, арбутина, эфирных масел, полисахаридов (инулина), дубильных веществ, органических кислот.

Получен экстракт сухой из разработанного сбора: установлена зависимость выхода БАВ от условий экстрагирования (тип экстрагента, измельченность сырья, соотношение сырья и экстрагента, температурный режим, кратность и время экстракции), определены параметры сушки экстракта сухого; установлен состав БАВ экстракта сухого. Определены критерии подлинности (внешние признаки, микроскопия, хроматографические характеристики), показатели качества (влажность, зола общая и зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, измельченность, примеси), показатели безопасности (радионуклиды, микробиологическая чистота)

сбора; определены показатели качества экстракта сухого (описание, потеря в массе при высушивании) и показатели безопасности (радионуклиды). Разработаны и валидированы методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид.

**Теоретическая и практическая значимость исследования**

Представленный в исследовании экспериментальный материал может служить теоретической базой для создания и исследования новых урологических лекарственных растительных средств. Результаты исследования используются в учебном процессе и научно-исследовательской работе на кафедре фармации Института фармации и трансляционной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), а также в работе испытательной лаборатории ГБУЗ «Центр лекарственного обеспечения Департамента здравоохранения города Москвы». На основе проведенных исследований разработан проект НД на комплексный урологический сбор «Фитоурол».

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- результаты разработки состава сбора;
- результаты фармакогностического изучения сбора и его стандартизация;
- результаты идентификации и определения содержания БАВ экстракта сухого;
- результаты стандартизации экстракта сухого;
- результаты изучения на животных фармакологической активности сбора;
- результаты определения показателей качества сбора для включения в проект НД.

**Методология и методы исследования**

Методология исследования построена на информационном скрининге и анализе литературных данных, оценке степени разработанности и актуальности темы. В процессе выполнения работы были использованы современные методы анализа физико-химического: хроматография в тонком слое сорбента, высокоэффективная жидкостная хроматография, УФ-спектрофотометрия, газожидкостная хроматография; химического: титриметрические методы (йодометрия, перманганатометрия, алкалиметрия); биологическая оценка специфической фармакологической активности *in vivo*; фармакопейные методики ГФ XI, XIII изд. Все расчеты производились в стандартных пакетах компьютерных программ Microsoft Office 2008: Microsoft Excel, Microsoft Access с использованием стандартных функций этих программ.

**Достоверность научных положений и выводов**

Достоверность полученных результатов определяется комплексным характером работы, использованием научных методов исследований, широким перечнем привлеченных источников и видов информации, в том числе данных, полученных в результате экспериментальных исследований. В работе использовалось современное сертифицированное оборудование, экспериментальные исследования проводились в достаточном числе повторностей. Разработанные методики были валидированы, что позволило получить достоверные и воспроизводимые результаты. Проведенная экспертная оценка подтвердила достоверность первичных материалов.

**Апробация результатов исследования**

Основные результаты исследований доложены на XLI международной научно-практической конференции «Современная медицина: актуальные вопросы» (Новосибирск, 2015 г.), XXXVI международной заочная научно-практической конференции «Научная дискуссия: вопросы медицины» (Москва, 2015 г.), Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы и перспективы развития медицины» (Омск, 2015 г.), Международной научно-практической конференции «Проблемы медицины в современных условиях» (Казань, 2015 г.), 6th European Conference on Biology and Medical. «East West» (Vienna, 2015).

Апробация работы состоялась на межкафедральной учебно-методической конференции Института фармации и трансляционной медицины Мультидисциплинарного центра клинических и медицинских исследований Международной школы «Медицина будущего» ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (30.05.2017 г., Москва).

**Личный вклад автора**

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, постановке целей и задач, выборе объекта исследования, проведении экспериментальных исследований, обобщении и статистической обработке полученных результатов. Автором лично проведена разработка, валидация методик определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин-7-гликозид методом дифференциальной спектрофотометрии, арбутина методом йодометрического титрования в сборе и экстракте сухом. Автором подобраны условия разделения БАВ лекарственного растительного сырья для качественной оценки сбора и экстракта

сухого методом ВЭЖХ. Вклад автора является определяющим на всех этапах проводимого исследования: начиная от постановки цели и задач до их практической реализации, обсуждения результатов исследования в научных публикациях и непосредственного внедрения в практику.

**Внедрение результатов исследования**

Результаты научной работы внедрены в учебный процесс кафедры фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (акт от 31.05.2017). Материалы исследования внедрены в практику работы испытательной лаборатории ГБУЗ «Центр лекарственного обеспечения Департамента здравоохранения г. Москвы» и используются в технологическом процессе получения сухих экстрактов из растительного сырья (акт от 05.06.2017) и для контроля качества многокомпонентных средств на основе фармацевтических субстанций растительного происхождения (акт от 05.06.2017).

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения, изложенные в диссертационной работе, соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия», а именно, пунктам 2, 3, 6 областей исследования.

**Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 233 страницах машинописного текста с приложениями и состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературы. Библиографический указатель содержит 192 наименования (из них отечественных – 138, иностранных – 54). Приведено 72 таблиц и 62 рисунка.

**Публикации**

Основное содержание, результаты исследования и выводы отражены в 15 публикациях, в том числе 4 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, из них 3 статьи – в зарубежных изданиях, индексированных в международной базе данных Scopus.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материалы и методы исследования**

Объектами исследования являлись:

1. Сбор, состоящий из лекарственного растительного сырья:

Листья брусники *(Folia Vaccinii vitis-idaeae)* – ГФ XI изд., ст. 27, стр. 278;

Хвоща полевого трава *(Equiseti arvensis herba*) – ГФ РФ XIII изд., ФС.2.5.0045.15;

Лопуха корни *(Arctii radices)* – ГФ РФ XIII изд., ФС.2.5.0025.15;

Укропа огородного плоды *(Anethi graveolentis fructus)* – ГФ РФ XIII изд., ФС.2.5.0043.15;

Трава полыни обыкновенной *(Herba Artemisiae vulgaris)* – ФС 42-2094-83.

Для составления сбора были использованы промышленные образцы ЛРС, приобретенные в аптечных организациях г. Москвы. Изучаемый сбор изготавливался в лабораторных условиях в соответствии с методикой ОФС «Сборы», ГФ XI изд., вып.1 и ГФ РФ XIII изд., ОФС.1.4.1.0020.15.

2. Экстракт сухой – лабораторный образец, полученный из сбора водной экстракцией и с последующей сушкой на ротационном испарителе.

Изучение внешних и анатомо-диагностических признаков сбора, показателей качества и безопасности сбора и экстракта сухого проводили в соответствии с ОФС ГФ XI изд., ОФС ГФ РФ XII изд. и ОФС ГФ РФ XIII изд.

Изучение анатомо-диагностических признаков сбора проводили на микроскопе МБИ-3 (при увеличении 7×8; 7×20; 7×40; 10×10). Результаты документировали с помощью фотоаппарата «Canon PowerShot G16» и микрофотонасадки МФН-12.

Экстрактивные вещества, извлекаемые водой, определяли по методике ГФ РФ XIII изд., ОФС.1.5.3.0006.15.

Количественное определение арбутина проводили методом йодометрического титрования по ГФ XI изд., вып. 2, ст. 27.

Анализ БАВ в сборе и экстракте сухом проводили методом ТСХ на пластинах «Kieselgel 60 $F_{254}$», TLC Silicagel 60 $F_{254}$ (Merck, Германия) размером 20×20 см, 15×20 см. Величины $R_f$ идентифицированных веществ являются средними из пяти измерений.

Компонентный состав эфирных масел, полученный из сбора, проводили методом ГЖХ на хроматографе «Кристаллюкс-4000М» (Мета-хром, Россия) с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы «NetChrom, V2.1» для «Windows». В качестве неподвижной фазы использовалась

кварцевая капиллярная колонка HP-5MS (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм), заполненная 5%-фенил-95%-метилполисилоксаном. В качестве подвижной фазы использовался азот. Скорость потока 1 мл/мин, температура: испарителя – 200°С, детектора – 250°С. Исходная температура термостата на момент начала анализа 100°С. В процессе эксперимента она изменяется со скоростью 5 град/мин и достигает 150°С. Детектор пламенно-ионизационный. Время анализа 10 мин. Объём пробы 1 мкл раствора с разделением потока 1:27.

ВЭЖХ анализ фенольных соединений, органических кислот, сахаров и арбутина проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «Gilson» (Gilson, Франция) с ручным инжектором «Rheodyne», модель 7125 (Rheodyne, США) с последующей компьютерной обработкой результатов с помощью программы «Мультихром» для «Windows». В качестве неподвижной фазы для фенольных соединений и арбутина была использована металлическая колонка «Kromasil C18» размером 4,6 × 250 мм, 5 мкн; для сахаров и органических кислот – металлическая колонка «Altech OA-1000 Organic Acids» размером 6,5 × 300 мм. В качестве подвижной фазы для фенольных соединений и арбутина: метанол – вода – фосфорная кислота (конц.) (400:600:5); для сахаров и органических кислот: 0,005 М раствор серной кислоты. Исследование проводили при комнатной температуре. Скорость подачи элюента и продолжительность анализа для фенольных соединений и арбутина – 0,8 мл/мин и 70 мин; для сахаров и органических кислот – 1 мл/мин и 20,38 мин. Объем пробы 50 мкл. Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора «Gilson» UV/VIS модель 151, при длине волны для фенольных соединений и арбутина – 254 нм; для сахаров и органических кислот – 190 нм.

Спектрофотомерический анализ фенольных соединений, фруктозанов и фруктозидов проводили на саморегистрирующем спектрофотометре «Helios Alfa» (Spectronic Unicam, Великобритания). Кювета с толщиной слоя 10 мм. Валидационную оценку спектрофотометрических методик дополнительно проводили на спектрофотометрах «Cary100 Scan» (Varian, США) и «Schimadzu UV-1800» (Schimadzu, Япония).

При проведении методик качественного и количественного определения БАВ были использованы стандартные образцы (СО) фирмы Sigma-Aldrich: лютеолин-7-гликозид (CAS № 5373-11-5), арбутин (CAS № 84380-01-8), рутин (CAS № 207671-50-9),

кверцетин (CAS № 6151-25-3), кофейная кислота (CAS № 331-39-5), галловая кислота (CAS № 5995-86-8), хлорогеновая кислота (CAS № 327-97-9), лютеолин (CAS № 491-70-3), кемпферол (CAS № 520-18-3), апигенин (CAS № 520-36-5), гиперозид (CAS № 482-36-0), фруктоза (CAS № 57-48-7).

Валидационная оценка методик в соответствии с ОФС ГФ РФ XIII изд., согласно ГОСТу и методическим указаниям была проведена по критериям: правильность, прецизионность (сходимость и воспроизводимость), специфичность, линейность.

Исследование фармакологической активности изучаемого сбора проводили на белых крысах линии Wistar обоего пола (масса 180-200 г) в осенне-зимний период. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP), Приказу МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» и Правилам, принятым «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях: EST №123» от 18.03.1986 (Страсбург, 1986). Протокол исследования согласован с этической комиссией Института общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения РАН (протокол №6 от 25.10.2016). Методом мгновенной декапитации осуществляли эвтаназию животных под легким эфирным наркозом.

Экспериментальную модель уролитиаза воспроизводили путем введения внутрижелудочно витамина $Д_2$ в дозе 12000 ЕД/кг массы 1 раз в сутки в течение 20 дней (контроль) по методу Higgens H.G. (1965). Одновременно с введением витамина $Д_2$ животным опытной группы интрагастрально вводили отвар изучаемого сбора в объеме 10 мл/кг один раз в сутки с начала эксперимента и на протяжении 20 дней. Водное извлечение испытуемого средства готовили по требованиям ГФ РФ XIII изд., ОФС.1.4.1.0018.15.

Функциональное состояние почек у животных оценивалось по определению: диуреза без нагрузки по общепринятому методу и с 2,5% водной нагрузкой; концентрации катионов калия, натрия и кальция в моче – методом пламенной фотометрии на приборе «Flapho – 4»; концентрации фосфора – по Хаями Тадаси. Депурационную функцию почек оценивали по содержанию креатинина и мочевины в сыворотке крови и моче – унифицированными методами с использованием наборов реактивов Био-Ла-Тест «Лахема»; содержание белка в моче – по реакции с сульфосалициловой кислотой; оценку скорости клубочковой фильтрации – по

клиренсу эндогенного креатинина; pH мочи на универсальном иономере ЭВ – 74 с использованием приспособления для малых объёмов. Для определения минутного диуреза осуществляли сбор мочи в течение 3 часов в обменных клетках, которые представляют собой металлические цилиндры с перфорированным дном и воронкой, предназначенной для стока собираемой мочи. Для определения концентрации малонового диальдегида в сыворотке крови и в гомогенате почек была использована методика, основанная на реакции взаимодействия малонового диальдегида с тиобарбитуровой кислотой и последующем спектрофотометрировании образованного окрашенного комплекса при длине волны 532 нм и 580 нм. Спектрофотометрическим методом определяли активность каталазы сыворотки крови. Полученные экспериментальные данные статистически обработаны общепринятыми методами.

**Результаты разработки состава сбора**

Для разрабатываемого комплексного урологического растительного средства было выбрано лекарственное растительное сырьё (ЛРС), традиционно используемое при заболеваниях мочевыводящих путей. ЛРС, входящее в сбор, давно и успешно используется в официнальной медицине, как мочегонное, спазмолитическое, антисептическое, противовоспалительное, желчегонное средство.

В соответствии с утвержденными нормативными документами виды ЛРС, входящего в сбор, стандартизуются по следующим показателям (табл. 1):

Таблица 1

**Количественное определение БАВ видов ЛРС сбора, регламентируемое нормативными документами**

| ЛРС | НД | Количественное определение |
|---|---|---|
| Листья брусники | ГФ XI | Арбутин (йодометрия) |
| Хвоща полевого трава | ГФ РФ XIII | Сумма флавоноидов в пересчете на кверцетин (СФМ) |
| Лопуха корни | ГФ РФ XIII | 1. Сумма полисахаридов в пересчете на фруктозу (СФМ)<br>2. Экстрактивные вещества, извлекаемые водой |
| Укропа пахучего плоды | ГФ РФ XIII | Эфирное масло (перегонка с водяным паром) |
| Трава полыни обыкновенной | ФС 42-2094-83 | Отсутствует |

Для выбора оптимального соотношения компонентов прописи, нами были изучены 5 составов сбора (табл. 2), которые оценивались по количественному содержанию экстрактивных веществ, извлекаемых водой. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 2

**Варианты состава сбора**

| № п/п | Наименование компонентов сбора | Состав сборов (количество входящих компонентов, г) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | Листья брусники | **30,0** | 20,0 | 30,0 | 30,0 | 35,0 |
| 2 | Трава хвоща полевого | **30,0** | 20,0 | 20,0 | 10,0 | 20,0 |
| 3 | Корни лопуха | **15,0** | 30,0 | 20,0 | 30,0 | 20,0 |
| 4 | Плоды укропа огородного | **15,0** | 20,0 | 20,0 | 20,0 | 20,0 |
| 5 | Трава полыни обыкновенной | **10,0** | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 5,0 |
| | итого | **100,0** | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |

Таблица 3

**Результаты определения содержания экстрактивных веществ составов сбора**

| Состав сбора | Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, % (n=10, p=0,95) |
|---|---|
| 1 | **23,17±0,49** |
| 2 | 21,64±0,47 |
| 3 | 22,28±0,39 |
| 4 | 22,96±0,43 |
| 5 | 21,16±0,35 |

На основании проведенных исследований был выбран состав сбора №1, так как в нем содержится наибольшее количество водорастворимых экстрактивных веществ.

На экспериментальной модели оксалатного уролитиаза, которую получали путем внутрижелудочного введения крысам витамина $Д_2$, провели изучение фармакологических эффектов водного извлечения сбора (табл. 4).

Таблица 4

**Фармакологические эффекты сбора №1 (экспериментальный уролитиаз, индуцированный введением витамина $Д_2$)**

| Объект исследования | Фармакологические эффекты |
|---|---|
| Сбор №1 | диуретический |
| | салуретический |
| | противовоспалительный |
| | нефропротекторный |
| | нормализующий фосфорно-кальциевый обмен |
| | антиоксидантный |
| | литолитический |

Полученные результаты (табл. 4) характеризуют широкий спектр фармакологических эффектов у изучаемого сбора, что позволяет рекомендовать его

для лечения и профилактики мочекаменной болезни. Для дальнейших исследований составу сбора №1 было присвоено условное название «Фитоурол».

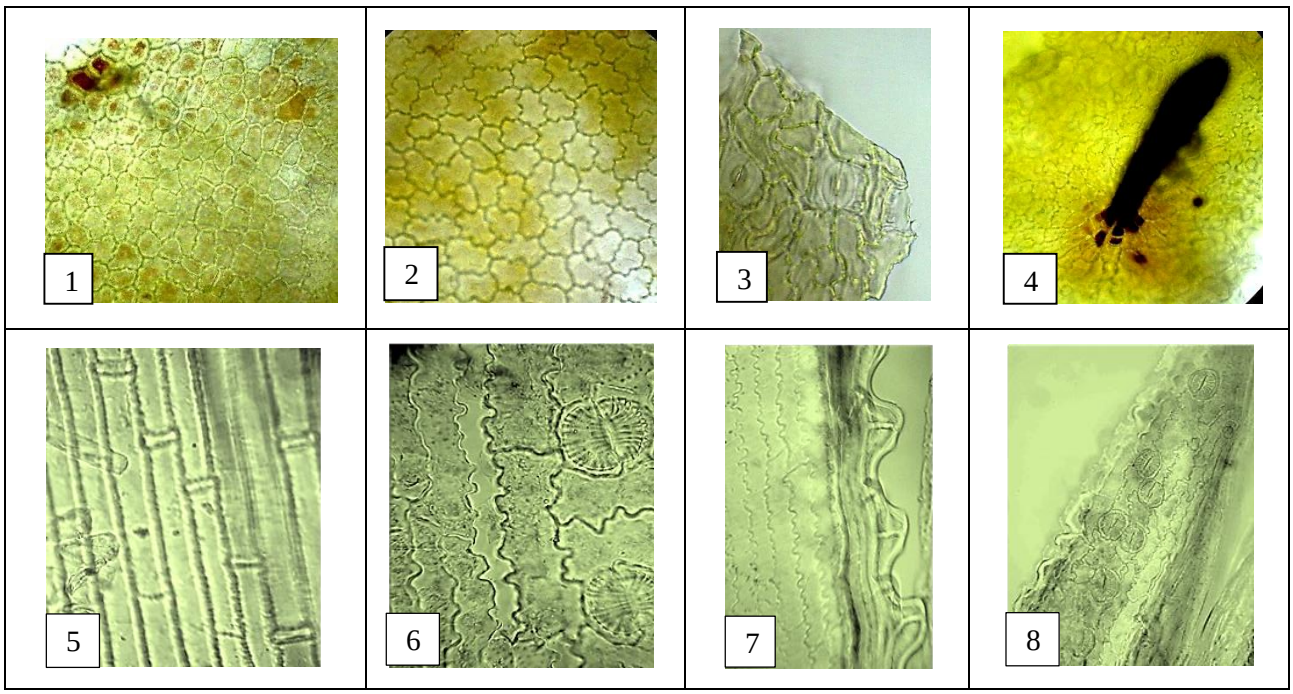
**Изучение морфолого-анатомических признаков сбора**

Изучаемый сбор исследовали визуально, а также с помощью лупы (10×) и стереомикроскопа (15×) (рис. 1, 2, 3).

Сбор «Фитоурол» представляет собой смесь неоднородных кусочков растительного сырья: измельчённых листьев, стеблей, соцветий, корней и цельных плодов, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм. Цвет желтовато-коричневато-зелёный со светло-зелёными и тёмно-коричневыми вкраплениями. Запах слабый своеобразный. Вкус водного извлечения горьковатый слегка пряный.

Рисунок 1– Внешний вид сбора

Рисунок 2 – Внешний вид цельных плодов укропа огородного (40×): Полуплодики: с внутренней и наружной стороны и не распавшийся вислоплодник



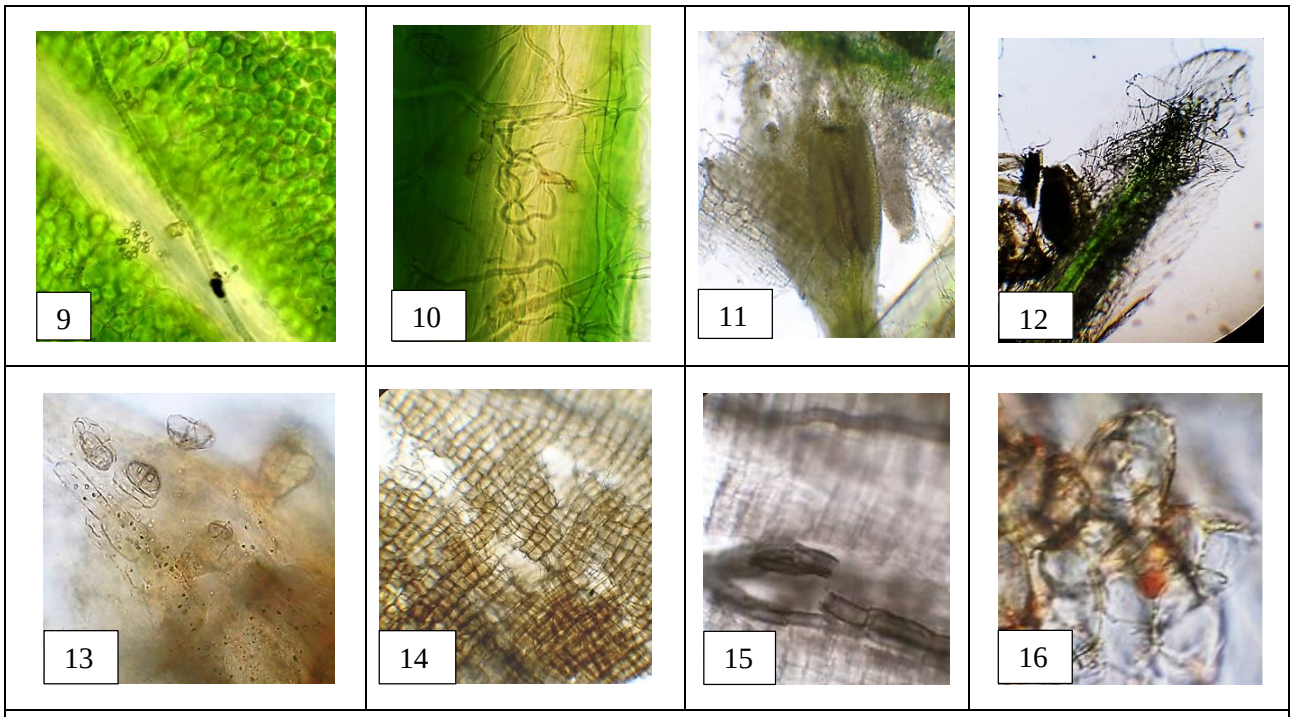



Рисунок 3 – Микропрепараты компонентов сбора «Фитоурол»:
*Брусники листья*: (1) – верхний эпидермис (280×); (2) – нижний эпидермис (280×); (3) – нижний эпидермис с устьицами парацитного типа (400×); (4) – нижний эпидермис с желёзкой (63×). *Хвоща полевого трава*: (5) – эпидермис ребер стеблей и ветвей (280×); (6) – эпидермис бороздок стеблей и ветвей, устьица (280×); (7) – выросты гребней ребер стеблей (100×); (8) – фрагмент зубчика (редуцированный лист) (100×). *Полыни обыкновенной трава*: (9) – верхний эпидермис, Т-образный волосок на жилке (280×); (10) – нижний эпидермис, головчатый и Т-образный волосок (280×); (11) – цветок с пыльниками (56×); (12) – листочек обвёртки (56×); (13) – желёзки на покрове бутона (280×). *Лопуха корни* (давленый препарат): (14) – пробка (56×); (15) – сосудистые тяжи (63×); (16) – капли жирного масла в клетках паренхимы коры (Судан III) (280×).

Таким образом, при изучении внешнего вида сбора «Фитоурол» были определены его диагностические признаки. Описаны и визуализированы микродиагностические признаки компонентов сбора.

**Изучение состава БАВ сбора и его стандартизация**

При помощи методов УФ-спектрофотометрии, ТСХ и также качественными реакциями, установлено и подтверждено наличие основных БАВ, входящих в состав ЛРС сбора: *флавоноидов* (рутин, гиперозид, лютеолин, кверцетин, лютеолин-7-гликозид, нарингенин), *фенолкарбоновой кислоты* (галловая), *гидроксикоричных кислот* (хлорогеновая, феруловая), *свободных сахаров* (сахароза, глюкоза, фруктоза), *фенологликозида* (арбутин), *дубильных веществ* и *полисахаридов* (инулин).

С использованием ВЭЖХ-анализа фенольных соединений в сборе были подтверждены ранее идентифицированые, а также установлены: *фенолкарбоновая кислота* (эллаговая); *гидроксикоричные кислоты* (неохлорогеновая, изоферуловая,

кофейная, цикориевая, коричная кислоты); производные *дубильных* веществ (эпикатехин, катехин, эпигаллокатехингаллат); *кумарины* (дикумарин, метоксикумарин) (табл. 5).

Таблица 5

**Компонентный состав фенольных соединений сбора «Фитоурол» определенный методом ВЭЖХ**

| № п/п | Компонент | Время удерживания, мин | Высота пика, mV | Площадь пика, mV*сек |
|---|---|---|---|---|
| 1. | Арбутин | 3,543 | 750,23 | 13571,88 |
| 2. | Неидентифиц. | 3,878 | 353,71 | 3021,63 |
| 3. | Галловая к-та | 4,072 | 485,42 | 8342,63 |
| 4. | Катехин | 4,541 | 219,65 | 3576,67 |
| 5. | Неидентифиц. | 4,718 | 200,92 | 1642,30 |
| 6. | ЭГКГаллат | 4,986 | 278,92 | 3753,88 |
| 7. | Неидентифиц. | 5,146 | 293,81 | 3772,91 |
| 8. | Эпикатехин | 5,337 | 216,18 | 2920,52 |
| 9. | Хлорогеновая к-та | 5,759 | 136,84 | 2667,54 |
| 10. | Цикориевая к-та | 6,021 | 131,34 | 1595,12 |
| 11. | Неидентифиц. | 6,248 | 161,40 | 4090,54 |
| 12. | Кофейная к-та | 6,829 | 120,17 | 3652,42 |
| 13. | Неидентифиц. | 7,414 | 61,75 | 1132,44 |
| 14. | Неохлорогеновая к-та | 7,75 | 65,08 | 1941,11 |
| 15. | Неидентифиц. | 8,405 | 76,25 | 3578,12 |
| 16. | Дикумарин | 9,432 | 37,33 | 1569,26 |
| 17. | Феруловая к-та | 10,33 | 43,19 | 1706,49 |
| 18. | Изоферуловая к-та | 11,47 | 44,86 | 2302,84 |
| 19. | Неидентифиц. | 12,14 | 40,47 | 1452,85 |
| 20. | Неидентифиц. | 13,16 | 84,92 | 4860,71 |
| 21. | Лютеолин-7-гликозид | 16,06 | 160,85 | 16032,53 |
| 22. | Гиперозид | 18,66 | 83,55 | 8130,76 |
| 23. | Рутин | 19,39 | 76,66 | 5996,24 |
| 24. | Неидентифиц. | 22,25 | 88,47 | 9720,98 |
| 25. | Неидентифиц. | 24,28 | 75,52 | 8531,89 |
| 26. | Неидентифиц. | 25,81 | 64,77 | 3518,88 |
| 27. | Эллаговая к-та | 26,62 | 64,91 | 5893,48 |
| 28. | Неидентифиц. | 27,98 | 61,67 | 9245,05 |
| 29. | Коричная к-та | 31,29 | 50,78 | 8452,20 |
| 30. | о-метоксикумарин | 34,44 | 38,71 | 6261,28 |
| 31. | Нарингенин | 39,51 | 41,81 | 12778,97 |
| 32. | Кверцетин | 45,69 | 58,69 | 18180,92 |
| 33. | Лютеолин | 51,61 | 21,70 | 5202,74 |

В водном извлечении сбора «Фитоурол» методом ВЭЖХ также определено присутствие *органических кислот* (янтарная, щавелевая кислоты) и *свободных сахаров* (фруктоза, глюкоза).

С использованием метода ГЖХ в составе эфирного масла, полученного из сбора, установлены: лимонен, камфора, гераниол, анетол, борнилацетат.

В сборе «Фитурол» было определено содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, и основных групп БАВ (табл. 6):

Таблица 6

**Количественное содержание экстрактивных и БАВ в изучаемом сборе (n=5, p=0,95)**

| № | Содержание, % | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Экстрактивные вещества, извлекаемые водой | Сумма флавоноидов | Арбутин | Сумма полисахаридов (инулин) | Эфирное масло | Сумма дубильных веществ | Сумма органических кислот |
| 1 | 21,2 | 0,46 | 1,39 | 1,77 | 0,36 | 3,38 | 1,02 |
| 2 | 23,7 | 0,47 | 1,49 | 1,72 | 0,34 | 3,43 | 1,07 |
| 3 | 21,1 | 0,45 | 1,48 | 1,83 | 0,33 | 3,39 | 1,10 |
| 4 | 22,7 | 0,47 | 1,35 | 1,84 | 0,35 | 3,34 | 1,07 |
| 5 | 23,1 | 0,48 | 1,41 | 1,74 | 0,33 | 3,33 | 1,03 |
| среднее | 22,36±1,44 | 0,466±0,01 | 1,42±0,07 | 1,78±0,06 | 0,34±0,02 | 3,37±0,05 | 1,06±0,04 |

Проведенные исследования позволили определить, что в образцах сбора «Фитоурол» количественное содержание экстрактивных веществ варьирует от 21,1 до 23,7%, флавоноидов от 0,45 до 0,48%, арбутина от 1,35 до 1,49%, полисахаридов (инулин) от 1,72 до 1,84%, эфирного масла от 0,33 до 0,36%, дубильных веществ от 3,33 до 3,43%, органических кислот от 1,02 до 1,10%.

С учетом фармакологической направленности изучаемого сбора, целесообразно, проводить стандартизацию по количественному содержанию суммы флавоноидов и арбутина. Исходя из того, что сбор «Фитоурол» предназначен для приготовления водных извлечений, то рационально проводить стандартизацию по содержанию экстрактивных веществ, извлекаемых водой. С учетом полученных данных и результатов статистического анализа, в качестве норматива предложено установить содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, не менее 21%, содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид не менее 0,4%, содержание арбутина – не менее 1,3%.

**Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в сборе**

Для количественного определения суммы флавоноидов в изучаемом сборе была использована спектрофотометрическая методика, основанная на реакции комплексообразования флавоноидов с алюминием хлоридом. В качестве стандартного образца был использован лютеолин-7-гликозид, который с алюминием хлоридом имеет аналогичную кривую и близкий максимум поглощения в одной области 402±5 нм с максимумом поглощения флавоноидов сбора с тем же комплексообразователем (рис. 4).

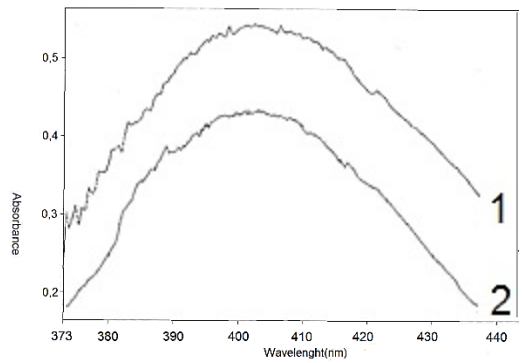



Рисунок 4 – Спектры поглощения комплексов флавоноидов изучаемого сбора (1) и СО лютеолин-7-гликозида с алюминием хлорида (2)

Для выбора оптимальных условий методики было изучено влияние ряда параметров: характер экстрагента, измельченность сырья, соотношение сырья и экстрагента, время и кратность экстракции. Экспериментально было установлено, что оптимальными условиями анализа являются: экстрагент – 70% спирт, соотношение сырья и экстрагента – 1:10, измельченность сбора – 2 мм, двухкратная экстракция по 60 минут.

Валидацию разработанной методики проводили по параметрам: правильность, прецизионность (сходимость и воспроизводимость), специфичность, линейность. На основании полученных результатов разработанную методику можно считать прошедшей валидацию.

**Изучение показателей доброкачественности сбора**

В соответствии с требованиями ГФ XI изд. и ГФ РФ XIII изд. в изучаемом сборе были определены показатели качества (табл. 7) и показатели безопасности (табл. 8).

Таблица 7

**Результаты изучения показателей качества изучаемого сбора (n=5, p=0,95)**

| № п/п | Экстрактивные вещества, извлекаемые водой, % | Влажность, % | Зола общая, % | Зола, нерастворимая в 10% HC1, % | Измельченность | | Примеси | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Частиц, не проходящих через сито 7 мм, % | Частиц, проходящих через сито 0,18 мм, % | Органическая, % | Минеральная, % |
| 1 | 21,2 | 8,13 | 12,57 | 3,16 | 4,5 | 3,8 | 1,43 | 0,87 |
| 2 | 23,7 | 7,36 | 11,65 | 4,25 | 5,0 | 3,3 | 1,23 | 0,91 |
| 3 | 21,1 | 6,56 | 10,37 | 3,88 | 3,6 | 3,9 | 1,32 | 0,81 |
| 4 | 22,7 | 7,85 | 12,54 | 3,75 | 5,1 | 4,5 | 1,37 | 0,95 |
| 5 | 23,1 | 9,45 | 12,63 | 4,99 | 4,8 | 4,0 | 1,49 | 0,97 |
| среднее | 22,36±1,44 | 7,87±1,32 | 11,95±1,20 | 4,01±0,84 | 4,6±0,75 | 3,9±0,5 | 1,37±0,12 | 0,9±0,08 |

В соответствии с полученными данными в проект НД на сбор «Фитоурол» предложено включить следующие показатели: экстрактивных веществ, извлекаемых водой, не менее 21%; золы общей не более 14%; золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, не более 5%; влажность не более 12%; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, не более 5%; органической примеси не более 1,5%; минеральной примеси не более 1%.

Содержание радионуклидов цезия-137 (от 1,2 до 1,67 Бк/кг) и стронция-90 (0,98 до 1,6 Бк/кг) находится в пределах допустимых норм.

Таблица 8

**Результаты определения микробной обсемененности изучаемого сбора**

| №п/п | Испытания на микробиологическую чистоту | Результат испытаний | Рекомендуемые требования (нормы) |
|---|---|---|---|
| 1 | Общее число аэробных микроорганизмов в 1 г | $2,5 \cdot 10^5$ | не более $10^7$ КОЕ |
| 2 | Общее число дрожжевых и плесневых грибов в 1 г | $3,5 \cdot 10^3$ | не более $10^5$ КОЕ |
| 3 | *Escherichia coli* в 1 г | отсутствие | не более $10^2$ КОЕ |

В проект НД раздел «Микробиологическая чистота» рекомендовано включить оценку сбора «Фитоурол» на соответствие требованиям по категории 4А.

**Изучение состава БАВ экстракта сухого и его стандартизация**

В качестве экстрагента была выбрана вода очищенная, так как целью было получение водного экстракта.

Для получения водного экстракта сухого из разработанного сбора были подобраны оптимальные параметры экстрагирования: экстрагент – горячая вода (70°С); соотношение сырья и экстрагента – 1:10; измельченность сырья – 2 мм; кратность и время экстракции – трехкратно, 60 мин. Сухой экстракт получали путем удаления растворителя на ротационном испарителе при температуре 60°С и давлении 0,1 кгс/см$^2$.

Полученный экстракт сухой представляет собой аморфный порошок от светло-коричневого до темно-коричневого цвета со специфическим запахом, горьковатого слегка вяжущего вкуса. Гигроскопичный и слегка комкуется. Потеря в массе при высушивании не превышает 5,0%.

Изучение качественного состава экстракта сухого проводилось с помощью качественных реакций, методами УФ-спектрофотометрии, ТСХ и ВЭЖХ. В результате нами подтверждено наличие в экстракте: *флавоноидов* (рутин, гиперозид, лютеолин, кверцетин, лютеолин-7-гликозид, нарингенин), *фенолкарбоновых кислот* (галловая, эллаговая кислоты), *гидроксикоричных кислот* (хлорогеновая, феруловая, цикориевая, кофейная, неохлорогеная, коричная кислоты), *свободных сахаров* (сахароза, глюкоза, фруктоза, рамноза), *фенологликозида* (арбутин), *органических кислот* (янтарная, щавелевая кислоты), производные *дубильных* веществ (эпикатехин, катехин, эпигаллокатехингаллат); *кумаринов* (о-метоксикумарин, дикумарин), *полисахаридов* (инулин), аскорбиновой кислоты.

Согласно полученным результатам, содержание БАВ в полученном экстракте сухом соответствует по качественному и количественному составу БАВ в исходном сборе. Этот факт подтверждает рациональность разработанной схемы его получения (табл. 9) и обеспечивает требуемую фармакологическую активность.

Таблица 9

**Количественное содержание БАВ в экстракте сухом изучаемого сбора (n=5, p=0,95)**

| № | Содержание, % | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Сумма флавоноидов | Арбутин | Сумма полисахаридов (инулин) | Сумма дубильных веществ | Сумма органических кислот |
| 1 | 2,83 | 4,03 | 3,60 | 3,93 | 2,01 |
| 2 | 3,05 | 4,14 | 3,89 | 3,98 | 1,93 |
| 3 | 2,95 | 4,06 | 3,74 | 4,09 | 2,10 |
| 4 | 3,07 | 4,17 | 3,64 | 4,11 | 1,96 |
| 5 | 2,88 | 4,21 | 3,89 | 3,95 | 2,04 |
| среднее | 2,96±0,13 | 4,12±0,09 | 3,75±0,17 | 4,01±0,11 | 2,01±0,08 |

Идентичность качественного состава экстракта сухого и сбора, позволила провести стандартизацию экстракта по содержанию флавоноидов и арбутина, в соответствии с методиками, разработанным для исходного сбора. В качестве норматива предложено установить содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид не менее 2,8%, содержание арбутина – не менее 4,0%.

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведено информационно-аналитическое исследование урологических лекарственных средств. Установлена перспективность использования в качестве лекарственного растительного сырья: листьев брусники, травы хвоща полевого, корней лопуха, плодов укропа огородного, травы полыни обыкновенной.

2. На основании полученных экспериментальных данных обоснован и предложен оптимальный состав сбора: листья брусники – 30%; трава хвоща полевого – 30%; корни лопуха – 15%; плоды укропа огородного – 15%; трава полыни обыкновенной – 10%.

3. Проведено фармакогностическое исследование сбора «Фитоурол». Изучены и установлены морфолого-анатомические признаки изучаемого сбора. Получены фотографии внешних признаков и микроскопии, которые могут быть использованы как иллюстративный материал разделов нормативной документации, регламентирующей качество сырья. Определен состав и содержание БАВ в изучаемом сборе: флавоноидов

0,47±0,01%, арбутина 1,4±0,07%, полисахаридов (инулина) 1,78±0,07%, дубильных веществ 3,37±0,05%, органических кислот 1,06±0,04%, эфирных масел 0,34±0,02%, кумаринов, свободных сахаров.

4. Получен экстракт сухой на основе изучаемого сбора. Подобраны оптимальные условия экстрагирования сбора, обеспечивающие максимальный выход действующих веществ: экстрагент – горячая вода (70°С), соотношение сырья и экстрагента – 1:10, измельченность сбора – 2 мм, кратность и время экстракции – трехкратно, 60 мин. Определены параметры сушки экстракта сухого на ротационном испарителе: температура 60°С и давлении 0,1 кгс/см$^2$. Проведено изучение состава БАВ экстракта сухого и установлено содержание: флавоноидов 2,9±0,13%, арбутина 4,12±0,09%, полисахаридов (инулина) 3,75±0,17%, дубильных веществ 4,01±0,11%, органических кислот 2,0±0,08%, определены кумарины, аскорбиновая кислота.

5. Разработаны и валидированы (по параметрам: правильность, прецизионность (сходимость и воспроизводимость), специфичность, линейность) спектрофотометрические методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в сборе (включена в проект НД на сбор «Фитоурол») и экстракте сухом.

6. Определены показатели качества сбора (экстрактивные вещества, извлекаемые водой, влажность, измельченность, зола общая, зола, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, органическая и минеральная примеси) и экстракта сухого (описание, потеря массы при высушивании), установлены их нормы; разработаны характеристики подлинности (внешние и микроскопические признаки, качественные реакции, ТСХ, УФ-спектр).

7. Проведено фармакологическое изучение комплексного урологического сбора. Установлено, что водное извлечение сбора «Фитоурол» обладает мочегонным, противовоспалительным, антиоксидантным действием. Определено, что превентивно-курсовое введение лабораторным животным отвара изучаемого сбора в объеме 10 мл/кг на фоне экспериментального уролитиаза, индуцированного внутрижелудочным введением витамина Д$_2$, сопровождается снижением выраженности процесса камнеобразования и явлений воспалительного процесса в паренхиме почек.

8. Разработан проект НД на комплексный урологический сбор «Фитоурол».

**Практические рекомендации.** По результатам экспериментальных данных разработаны методики, которые целесообразно использовать в контрольно-аналитических лабораториях для контроля качества многокомпонентных средств на основе фармацевтических субстанций растительного происхождения. Результаты полученных исследований могут быть рекомендованы к использованию в учебном процессе студентов по дисциплинам фармакогнозия, фармацевтическая химия. Результаты фармакогностических и физико-химических исследований включены в проект НД на комплексный урологический сбор «Фитоурол».

**Перспективы дальнейшей разработки темы** заключаются в клиническом исследовании предложенного растительного сбора. Также представляет интерес доклинические и клинические исследования экстракта сухого, полученного из разработанного сбора. Разработка инструкции по медицинскому применению и приготовлению отвара из сбора для лечения и профилактики мочекаменной болезни, что является, в настоящее время, перспективным направлением в клинической практике.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Smyslova, O.A.** Characteristics of the new comprehensive herbal medicine for the treatment and prevention of urolithiasis / **O.A. Smyslova**, A.A. Markaryan, O.V. Evdokimova, I.U. Glazkova, M.A. Yaroshenko // **Biology and Medicine**. – 2015. – Vol. 7, № 2.
2. **Smyslova, O.A.** Study of chemical composition of the new urolithic herbal tea **/ O.A. Smyslova,** A.A. Markaryan, M.A. Yaroshenko // **Biology and Medicine**. – 2015. – Vol. 7, № 2.
3. **Смыслова, О.А.** Хроматографическое исследование фенольных соединений многокомпонентного растительного сбора для лечения и профилактики мочекаменной болезни / **Смыслова О.А**. // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2015. – №1 (6). – С. 14-19.
4. **Смыслова, О.А.** Новое перспективное комплексное растительное средство для терапии и профилактики мочекаменной болезни / **О.А. Смыслова**, А.А. Маркарян, И.Ю. Глазкова // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2015. – №1 (6). – С. 31-36.
5. **Смыслова, О.А.** Разработка и фитохимическое изучение растительной композиции для лечения и профилактики мочекаменной болезни / **О.А. Смыслова**, А.А. Маркарян, И.Ю. Глазкова // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2015. – №1(6). – С. 44-47.
6. **Смыслова, О.А.** Исследования по идентификации и определению содержания арбутина в уролитическом растительном сборе / **О.А. Смыслова**, А.А. Маркарян // «Современная медицина: актуальные вопросы»: Сб. ст. по материалам XLI междунар. науч.-практ. конф. – Новосибирск: Изд. «СибАК», 2015. – №3 (39). – С. 84-91.
7. **Смыслова, О.А.** Хроматографическое исследование эфирного масла сбора уролитического / **Смыслова О.А.** // «Современная медицина: актуальные вопросы»: Сб. ст. по материалам XLI междунар. науч.-практ. конф. – Новосибирск: Изд. «СибАК», 2015. – № 3 (39). – С. 91-96.

8. **Смыслова, О.А.** Качественная и количественная оценка содержания сахаров в комплексном растительном средстве для терапии и профилактики уролитиаза / **О.А. Смыслова**, А.А. Маркарян // «Научная дискуссия: вопросы медицины»: Сб. ст. по материалам XXXVI междунар. заочной науч.-практ. конф. – М.: Изд. «Международный центр науки и образования», 2015. – С. 83-89.

9. **Смыслова, О.А.** Идентификация полисахаридов и органических кислот в сборе, обладающем уролитической активностью / **О.А. Смыслова**, А.А. Маркарян // Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы и перспективы развития медицины». – Омск: Изд. «ИЦРОН», 2015. – № 2. – С. 126-127.

10. **Смыслова, О.А.** Количественное определение дубильных веществ перманганатометрическим методом в фитокомпозиции с уролитической активностью / **О.А. Смыслова**, А.А. Маркарян // Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции «Проблемы медицины в современных условиях». – Казань: Изд. «ИЦРОН», 2015. – № 2. – С. 141-143.

11. **Smyslova, O.A.**, Markaryan A. A. Chromatographic study of flavonoids multi-plant collection for treatment and prevention of urolithiasis / **O.A. Smyslova**, A.A. Markaryan // Proceedings of the 6th European Conference on Biology and Medical Sciences. «East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH. Vienna. 2015. PP. 135-138.

12. **Смыслова О.А.** Количественное определение флавоноидов в комплексном растительном средстве с уролитической активностью / **О.А. Смыслова**, А.А. Маркарян, О.В. Евдокимова, И.Ю. Глазкова // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2015. – № 3 (8). – С. 54-59.

13. **Смыслова О.А.** Изучение стадии экстрагирования при получении сухого экстракта на основе сбора уролитического / **О.А. Смыслова**, А.А. Маркарян, О.В. Евдокимова, И.Ю. Глазкова // **Вопросы обеспечения качества лекарственных средств**. – 2015. – №5 (10). – С. 9-13.

14. **Smyslova, O.A.** Pharmacotherapeutic efficiency of the new complex urological herbal medicine in experimental urolithiasis / **O.A. Smyslova**, T.M. Litvinova, I.U. Glazkova, M.N. Denisova, D.A. Ermakov, I.I. Suvorova // **International Journal of Green Pharmacy**. – Oct-Dec 2017 (Suppl) – Vol. 11, № 4. – PP. 730-736.

15. **Смыслова О.А.** Разработка методик исследования биологически активных веществ в новом растительном сборе / **О.А. Смыслова**, Т.М. Литвинова, Н.Н. Сапронова, И.Ю. Глазкова // Медицинское образование и вузовская наука. – 2018. – №1 (11). – С. 72-77.

**Список сокращений:**

БАВ – биологически активные вещества
ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
ГЖХ – газожидкостная хроматография
ЛРС – лекарственное растительное сырье
МКБ – мочекаменная болезнь
НД – нормативная документация
ОФС – общая фармакопейная статья
СО – стандартный образец
СФМ – спектрофотомерия
ТСХ – тонкослойная хроматография
УФ-спектр – ультрафиолетовый спектр