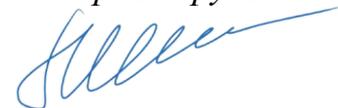


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Кахраманова Сабина Джейхуновна

**Изучение состава биологически активных соединений грудного сбора № 1 и
лекарственного растительного препарата на его основе**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

кандидат фармацевтических наук, доцент

Боков Дмитрий Олегович

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Характеристика готовой лекарственной формы грудного сбора №1	16
1.2. Химический состав грудного сбора №1 и входящих в него компонентов	17
1.2.1. Полисахариды как основная группа биологически активных соединений грудного сбора №1	17
1.2.2. Другие группы биологически активных соединений.....	18
1.3. Стандартизация грудного сбора №1 и его компонентов	21
1.4. Фармакологическая активность и применение в медицине.....	23
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1	31
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	32
2.1. Характеристика объектов исследования.....	32
2.2. Методы анализа, оборудование	32
2.3. Изучение химического состава методом инфракрасной спектроскопии	34
2.4. Определение полисахаридов и свободных сахаров	34
2.5. Определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот	35
2.6. Определение аминокислот.....	35
2.7. Определение жирнокислотного состава	35
2.8. Определение компонентного состава эфирного масла	37
2.9. Определение элементного состава	37
2.10. Реактивы и стандартные образцы.....	37
2.11. Валидация методов и обработка полученных результатов.....	38
ГЛАВА 3. МАКРО- И МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ	39
3.1. Анализ внешних признаков грудного сбора №1	39
3.2. Микроскопический анализ грудного сбора №1	43
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3	52
ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	53

4.1. Предварительный скрининг.....	53
4.2. Анализ химического состава грудного сбора №1 и его компонентов с помощью инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения	54
4.3. Определение суммы полисахаридов методом гравиметрии	57
4.4. Сумма полисахаридов и свободных сахаров в пересчёте на глюкозу	59
4.5. Изучение флавоноидов и гидроксикоричных кислот	61
4.6. Определение флавоноидов методом тонкослойной хроматографии	74
4.7. Определение суммы флавоноидов методом спектрофотометрии	77
4.8. Определение жирнокислотного состава	79
4.9. Определение компонентного состава летучих органических веществ	81
4.10. Определение суммы свободных органических кислот	85
4.11. Определение дубильных веществ	87
4.12. Определение элементного состава	89
4.13. Определение аминокислотного состава	92
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	95
ГЛАВА 5. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ВОССТАНАВЛИВАЮЩИХ САХАРОВ В СОСТАВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ	96
5.1. Пробоподготовка образцов для анализа	97
5.2. Валидационные характеристики методики	98
5.2.1. Реактивы и материалы	99
5.2.2. Расчёт содержания суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов	99
5.2.3. Приготовление растворов стандартных образцов	100
5.2.4. Метрологические характеристики методики	100
5.2.5. Линейность	101
5.2.6. Повторяемость	102
5.2.7. Внутрилабораторная прецизионность (воспроизводимость).....	103
5.2.8. Правильность.....	104

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5	106
ГЛАВА 6. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ.....	107
6.1. Пробоподготовка образцов для анализа	108
6.2. Валидационные характеристики методики	109
6.2.1. Реактивы и материалы	110
6.2.2. Расчёт содержания суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин	110
6.2.3. Подготовка стандартных образцов для анализа	111
6.2.4. Метрологические характеристики методики.....	111
6.2.5. Линейность	111
6.2.6. Повторяемость.....	113
6.2.7. Внутрилабораторная прецизионность (воспроизводимость).....	113
6.2.8. Правильность.....	114
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6	115
ГЛАВА 7. РАЗРАБОТКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА	116
7.1. Определение влажности.....	117
7.2. Определение золы общей и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте 10 %	117
7.3. Определение измельчённости и посторонних примесей	118
7.4. Количественное определение основных групп биологически активных соединений грудного сбора №1	119
7.5. Анализ стабильности грудного сбора №1	121
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7	123
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	124
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	126
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	127
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	127
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	128
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	130
ПРИЛОЖЕНИЕ А	143

ПРИЛОЖЕНИЕ Б..... 155

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

На территории Российской Федерации зарегистрировано большое количество лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов (ЛРП) на его основе [7], которые используются для комплексной терапии различных заболеваний, в том числе и бронхолёгочных.

Частые острые респираторные заболевания, такие как ОРВИ (острые респираторные вирусные инфекции) и грипп, могут снижать иммунитет организма. Это происходит потому, что вирусы и бактерии, вызывающие эти заболевания, атакуют и разрушают клетки иммунной системы, которые отвечают за борьбу с инфекцией. Снижение иммунитета делает организм более уязвимым для других инфекций. Кроме того, инфекция, развивающаяся в органах респираторной системы, может оставлять воспалительные процессы и повреждения в бронхах и легких. При частых острых респираторных заболеваниях эти повреждения могут накапливаться и приводить к развитию хронической бронхолегочной патологии.

Для профилактики и лечения воспалений лёгких, купирования симптоматики широко используют синтетические лекарственные препараты (ЛП). Наряду с ними также широко используются лекарственные растительные средства, обладающие рядом преимуществ – относительно низкой стоимостью, отсутствием серьёзных побочных действий, аллергических реакций на ЛП. Они отличаются простотой применения и возможностью использования у пациентов детского и пожилого возраста. ЛРП используются в виде различных лекарственных форм, применяются в качестве, как индивидуальных компонентов, так и растительных сборов.

Лекарственные растительные сборы (далее – сборы) являются более предпочтительными по сравнению с однокомпонентными ЛП ввиду сочетания в

себе нескольких видов ЛРС, позволяющих достичь более выраженного фармакологического действия комплексного ЛП. Составы сборов подобраны таким образом, чтобы воздействовать на различные симптомы патологии и обеспечить наилучшее терапевтическое действие. Сборы используются для приготовления водных извлечений – настоев и отваров, изготавлиющихся в рецептурно-производственном отделе аптек и самостоятельно пациентами. В настоящее время становится вновь популярным отпуск препаратов, изготовленных непосредственно в аптеке, что делает несомненно актуальным изучение перехода групп биологически активных соединений растительных препаратов в настой или отвар для дальнейшей стандартизации сырья и препарата на его основе. Одним из современных и активно используемых сборов в качестве комплексной терапии бронхолегочных заболеваний является грудной сбор №1 (ГС №1, Фитопектол №1). Сбор выпускается в пачках картонных в измельченном виде, а также в виде порошка в фильтр-пакетах, и применяется в виде настоя, который готовится как в аптечном учреждении, так и пациентами в домашних условиях.

Несмотря на то, что ГС №1 давно используется в медицинской практике и активно реализуется через аптечные учреждения, изучению его компонентного состава и вопросам стандартизации уделялось недостаточно внимания. Известно, что основной группой биологически активных соединений (БАС) компонентов ГС №1 являются полисахариды (ПСХ) и флавоноиды. В настоящее время стандартизация ПСХ компонентов сбора либо не проводится, либо используются устаревшие методики. Тем временем на сам сбор отсутствует действующая фармакопейная статья (ФС), что делает проведение работы по изучению компонентного состава БАС ГС №1, используя современные подходы к стандартизации и физико-химические методы анализа, и оценке перехода БАС в настой несомненно актуальным.

Степень разработанности темы исследования

Грудной сбор №1 – лекарственный растительный препарат, состоящий из листьев мать-и-мачехи обыкновенной (40%), корней алтея (40%), травы душицы обыкновенной (20%). ГС №1 используется для приготовления настоя. Настой сбора может быть изготовлен как в аптечном учреждении (из ЛРС или жидкого экстракта) [37], так и непосредственно пациентом.

На ГС №1 в 1999 году была разработана и утверждена фармакопейная статья (ФС) ФС-42-1030-99 и прекратила действие в 2004 году. В настоящее время действующая фармакопейная статья на сбор отсутствует. В Государственную Фармакопею РФ (ГФ РФ) включены ФС на компоненты ГС №1, имеющие ряд недоработок. Так, в ФС «Алтея корни» ГФ РФ XIV издания регламентируется не количественное содержание групп БАС, обуславливающих фармакологические эффекты сбора, а суммарное содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, из-за чего затруднена адекватная оценка качества выпускаемого препарата. В литературе отсутствует информация об изучении химического состава БАС ГС №1 и оценки их перехода в настой.

Цель и задачи исследования

Целью настоящей работы явилось изучение компонентного состава групп БАС, обеспечивающих комплексное фармакологическое действие, и оценка перехода БАС в настой для научного обоснования характеристик подлинности и показателей качества ГС №1.

Для достижения поставленной нами цели необходимо решить следующие задачи:

1. Провести информационно-аналитическое исследование общедоступной научной литературы по теме исследования, уделяя особое внимание химическому составу, фармакологической активности сбора, его компонентов и настоя на его

основе;

2. Установить основные диагностические внешние и микроскопические признаки компонентов ГС №1, выпускаемого в пачках и фильтр-пакетах, для их идентификации;

3. Идентифицировать компоненты основных групп биологически активных соединений (профиль простых сахаров и полисахариды, флавоноиды, дубильные вещества, органические кислоты, аминокислоты, летучие органические соединения, элементный состав)

4. Определить количественное содержание основных групп биологически активных соединений (БАС) изучаемого ЛРП, выпускаемого в пачках (сбор измельчённый) и фильтр-пакетах (сбор-порошок), оценить переход БАС в настой сбора.

5. Разработать и валидировать методики количественного определения полисахаридов и флавоноидов ГС №1;

6. Уточнить показатели качества ГС №1, выпускаемого в пачках и фильтр-пакетах, настоя на его основе, и их нормы для включения в нормативную документацию на изучаемый ЛРП.

Научная новизна

Проведено изучение компонентного состава основных групп БАС сбора (полисахариды, флавоноиды, дубильные вещества, органические кислоты, жирные кислоты, аминокислоты (заменимые и незаменимые), жирные кислоты (насыщенные, ненасыщенные, цис- и трансизомеры), летучие органические соединения), а также элементного состава с использованием современных физико-химических методов анализа (высокоэффективная жидкостная хроматография, тонкослойная хроматография, спектрофотометрия, спектрометрия в инфракрасной области спектра). Разработаны методики количественного определения содержания суммы восстанавливающих сахаров в

составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу и суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин в ГС №1 спектрофотометрическим методом. Установлены показатели качества ГС №1, анатомо-диагностические внешние и микроскопические признаки, способствующие идентификации компонентов сбора.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные данные в результате экспериментальной работы позволяют расширить область знаний о диагностических признаках, составляющих ГС №1, составе БАС ГС №1, методах их определения и количественной оценке, а также о переходе активных веществ в настой сбора. Научно обоснованы характеристики подлинности и показатели качества исследуемого сбора. Результаты изучения состава биологически активных соединений грудного сбора №1 и препарата на его основе, разработанные методики количественного определения двух основных (полисахаридов и флавоноидов) основных групп БАС, оценки их перехода в настой, и их применение в разработке нормативной документации на ГС №1 могут использоваться для контроля качества препарата на современном уровне.

Методология и методы исследования

Работа была выполнена с использованием информационно-аналитического, фармакогностического, морфолого-анатомического, физико-химических методов. Методология исследования основывалась на анализе и систематизации результатов поиска информации в общедоступной научной литературе, оценке существующих способов стандартизации комплексных лекарственных растительных препаратов и водных извлечений на их основе. Для идентификации и количественного определения основных групп БАС сбора были разработаны

современные методики анализа, позволяющие оценивать качество изучаемого препарата на высоком уровне.

Личный вклад автора

Вклад автора играет ключевую роль на всех этапах исследования: от постановки целей и задач до получения и обсуждения экспериментальных данных, от статистической обработки результатов исследования до анализа и подготовки публикаций, а также выступления с докладами на научно-практических конференциях. Автором проведён ряд исследований с использованием общепринятых фармакопейных методов анализа лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов: определение внешних и микроскопических признаков, определение количественного содержания групп БАС в грудном сборе и его компонентах (сумма полисахаридов гравиметрическим методом, сумма полисахаридов и свободных сахаров, сумма флавоноидов в пересчёте на лютеолин методом спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой области, сумма органических кислот, сумма дубильных веществ – титриметрическим методом), а также проведена идентификация флавоноидов в сборе, настое и компонентах методом тонкослойной хроматографии. Совместно с научным руководителем проанализированы профили аминокислот (метод ВЭЖХ), летучих органических веществ и жирных кислот (метод ГХ/МС и ГХ-ПИД), флавоноидов и гидроксикоричных кислот (метод УЭЖХ-УФ/МС/МС), исследован элементный состав (метод ИСП-МС). Автор самостоятельно подготовил проект фармакопейной статьи на грудной сбор №1 с целью дальнейшего включения в издание Государственной фармакопеи Российской Федерации.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Результаты изучения качественного и количественного состава основных групп БАС ГС №1, выпускаемого в пачках и фильтр-пакетах, и настоя на его основе.

2. Результаты разработки и валидации методики количественного определения суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в ГС №1 спектрофотометрическим методом.

3. Результаты разработки и валидации методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин в ГС №1 методом спектрофотометрии.

4. Результаты изучения характеристик подлинности и показателей качества ГС №1.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов обусловлена необходимым объёмом экспериментального материала (в работе использовалось более 20 серий ГС №1 и его компонентов, приобретённых в аптечных сетях г. Москвы в период с 2019 по 2022 гг), применением различных фармакопейных методов анализа (титриметрия, гравиметрия, тонкослойная хроматография), высокоспецифичных физико-химических методов (спектрофотометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография, газовая хроматография), сертифицированных реактивов и растворителей, поверенного оборудования (спектрофотометры, хроматографы, весы аналитические), сравнением полученных экспериментальных данных с литературными. В процессе проведения разработки и валидации методик количественного определения применялись методы статистической обработки для установления правильности, воспроизводимости и сходимости результатов исследований.

Основные результаты диссертационной работы доложены на:

- Международной научной конференции «От растения до лекарственного препарата» ФГБНУ ВИЛАР (г. Москва, 2020).

- Международной научно-практической онлайн-конференции «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (г. Пятигорск, 2020).

- VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной Году науки и технологий «Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации» (г. Орехово-Зуево, 2021).

Апробация результатов диссертационного исследования состоялась на заседании научно-практической конференции кафедры фармацевтического естествознания, кафедры химии, кафедры фармакологии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (13.12.2023 г., г. Москва).

Внедрение результатов в практику

Результаты изучения компонентного состава БАС, характеристик подлинности и доброкачественности ГС №1 и его компонентов использованы в учебном процессе кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Разработан проект фармакопейной статьи «Грудной сбор №1 для приготовления настоя» (разделы: «Внешние признаки», «Микроскопические признаки», «Определение основных групп биологически активных веществ», «Испытания», «Количественное определение»).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

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

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 им. 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».

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликованы 10 работ, в том числе: 1 статья в журнале, включённом в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России; 2 – в международной базе данных CA(pt); 6 – иные публикации по результатам исследования; 1 – в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 155 страницах машинописного текста, включая приложение 12 страниц. 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 108 источников, из них – 59 иностранных), 2 приложений. Диссертация содержит 47 рисунков, в том числе 39 в основном тексте работы и 8 – в приложениях, а также 55 таблиц.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Характеристика готовой лекарственной формы грудного сбора №1

По степени переработки лекарственный препарат представляет собой композицию фармакопейных растений в нативном виде, резаных, смешанных в пропорциях согласно процентному содержанию:

Аллея корни	40 %
Мать-и-мачехи обыкновенной трава	40 %
Душицы обыкновенной трава	20 %

Препарат представляет собой смесь компонентов сбора, измельчённых до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, расфасованного и упакованного в пачки картонные по 35 г. Также сбор выпускается в фильтр-пакетах по 1,5 г. Сбор измельчённый и сбор-порошок используются для приготовления настоя в рецептурно-производственном отделе аптеки и самостоятельно пациентами.

Настой представляет собой водное извлечение биологических активных соединений из измельчённого растительного сырья, получаемое путём настаивания с горячей водой (100 °С) на кипящей водяной бане в течение 15 мин, затем охлаждением при комнатной температуре в течение 45 мин и процеживанием. Водная экстракция осуществляется в соответствии с рекомендациями ГФ РФ XV издания ОФС «Настои и отвары» [27], инструкцией по медицинскому применению лекарственного препарата.

Фармакологическое и терапевтическое действие сбора обусловлены суммой биологических активных соединений, содержащихся в отдельных компонентах сбора и переходящих в водное извлечение, которое принимает пациент.

Грудной сбор №1 состоит из сложных для измельчения компонентов. Измельчённые корни алтея с волокнистой структурой и листья мать-и-мачехи, беловойлочно-опушённые, цепляющие волосками частицы сырья, слипающиеся в

клубки, при смешивании образуют неравномерную комкующуюся массу, которую в производстве невозможно переработать таким образом, чтобы достичь содержания в ней частиц, проходящих сквозь сито 7 мм и не проходящих сквозь сито с отверстиями 0,2 мм. Кроме того, сбор содержит в себе разные морфологические группы (корни, листья, траву), что делает невозможным при их измельчении и смешивании добиться содержания частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,2 мм.

1.2. Химический состав грудного сбора №1 и входящих в него компонентов

1.2.1. Полисахариды как основная группа биологически активных соединений грудного сбора №1

В Таблице 1 суммированы результаты анализа общедоступной литературы на предмет компонентного состава полисахаридов составляющих ГС №1 [13,33].

Таблица 1 – Моносахаридный состав полисахаридов компонентов грудного сбора №1

Название ПСХ, содержание в ЛРС	Состав сахаров ПСХ, их соотношение
<i>Листья мать-и-мачехи</i>	
Слизи, пектины	D-галактуроновая кислота (67%), D-галактоза (11%), L-арабиноза (8%), D-глюкоза (5%), L-рамноза (4%), D-рибоза (2%), O-CH ₃ -сахара (2%), D-ксилоза (1%) [57]
Рамногалактуронан I (слизь) (33%), нейтральные полисахариды (67%)	Галактоза (43,5%), рамноза (34,56%), галактуроновая кислота (25,20%), арабиноза (21,13%), глюкоза (12,72%), манноза (8,73%), ксилоза (1,02%) [21]
Слизи (10%)	Арабиноза, фруктоза, галактоза, глюкоза, уроновые кислоты, ксилоза; инулин [74]
<i>Трава душицы</i>	
Полисахариды (6,60%)	Галактоза (48,9%), глюкоза (36,84%), арабиноза (20,9%), фруктоза (12,4%), ксилоза (3,6%), сахароза (3,2%), рамноза (1,43%) [83]

Продолжение Таблицы 1

Название ПСХ, содержание в ЛРС	Состав сахаров ПСХ, их соотношение
<i>Корни алтея</i>	
Пектины (11%), Крахмал (25-35%), Слизь	Сахароза (10%), Глюкоза (5% весной, 20% зимой) [88]
Водорастворимые полисахариды (галактурорамнаны, арабинаны, гликаны, арабиногалактаны).	Галактоза (28%), рамноза (26%), глюкоза (21%), арабиноза (5%) [68]
Кислые арабиногалактаны, галактурановые рамнаны, L-арабинаны, D-гликаны, кислые гетерополисахариды	D-галактоза, L-рамноза, D-глюкуроновая кислота, D-галактурановая кислота [91]
Слизь: Рамногалактуронан; Уроновые кислоты	Галактоза (56,8%), рамноза (43,2%); галактурановая кислота (25,3%), глюкуроновая кислота (25,3%) [90,75]
Арабинан	Арабиноза (100%) [89,75]
Гликан	Глюкоза (100%) [58,75]

1.2.2. Другие группы биологически активных соединений

Химический состав БАС компонентов ГС №1 достаточно изучен. Например, химический состав травы душицы представлен флавоноидами, антоцианами, фенолкарбонowymi кислотами, дубильными веществами. В эфирном масле травы душицы обыкновенной идентифицировано 53 соединения, основными из которых являлись 1,8-цинеол, сабинен, цис- β -оцимен, транс- β -оцимен, β -кариофиллен [42,34].

Листья мать-и-мачехи содержат горькие гликозиды (до 2,63 %), полисахариды, ситостерин, галловую, яблочную и винную кислоты, сапонины, каротиноиды (5,18 %), аскорбиновую кислоту (5 мг/%), инулин [22,40], а также терпены, флавоноиды и алкалоиды [88,58]. Говоря о содержании летучих соединений, листья мать-и-мачехи содержат миристиновую кислоту, кариофилленоксид и пальмитолеиновую кислоту [58,101]. Цветки же содержат трикозан, лауриновую, линоненую, миристиновую кислоты, кариофилленоксид [15].

Из листьев мать-и-мачехи обыкновенной с помощью спектроскопии

ядерного магнитного резонанса (ЯМР) 1H и ^{13}C анализа продуктов кислотного и ферментативного гидролиза были идентифицированы кверцетин и его производные: 3-О- β -глюкопиранозид, 3-О- α -рамнопиранозил(1 \rightarrow 6)- β -глюкопиранозид, 3-О- β -арабинопиранозид, 3-О- β -глюкопиранозид и 3-О- α -рамнопиранозил(1 \rightarrow 6)- β -глюкопиранозид. В дополнение к вышеупомянутым флавоноидам также было обнаружено присутствие трёх простых фенолокислот: *n*-гидроксibenзойной, цис-, транс-*n*-кумаровой и цис-, транс-хлорогеновой [66].

Отмечено наличие полисахаридов, флавоноидов (астрагалин и гликозиды кемпферола и кверцетина), а также кумаринов и гидроксикоричных кислот в листьях алтея [72,68]. В корнях же обнаружены полисахариды, флавоноиды, пектины, фенольные соединения [71,96]. Для наглядности химический состав основных групп БАС компонентов ГС №1 представлен в Таблице 2.

Таблица 2 – Химический состав компонентов грудного сбора №1

Компонент сбора	Группа БАС	Соединение
Листья мать-и-мачехи обыкновенной	Полисахариды	Галактоза, арабиноза, рамноза, манноза, ксилоза, глюкоза, галактуроновая кислота [38]
	Летучие соединения	«Анетол, Тетрадекан, Кариофиллен, Р-Бисаболен, Каламенен* , Дигидроактиндиолит, Спатуленол, Кариофиллен оксид, у-Эудесмол, Гептадекан, Фитол, Гептадекан, 9-Метил-нонадекан» [10]
	Аминокислоты	«Глутаминовая кислота, лейцин, изолейцин, аланин, валин, треонин, аденин» [86]
	Флавоноиды	Кемпферол, рутин [86]
	Жирные кислоты	«Линоленовая, пальмитиновая кислота» [86]
	Гидроксикоричные кислоты	«Кофейная кислота, хлорогеновая кислота, синапиновая кислота, 3,5-дикафеоилхиновая кислота, 3,4-дикафеоилхиновая кислота, 4,5-дикафеоилхиновая кислота» [86]
	Моносахариды	« β -глюкоза, альфа-глюкоза, сахароза» [86]
	Каротиноиды	«Транс-сквален» [86]
	Фосфолипиды	«Холин, фосфатидилхолин» [86]
	Органические кислоты	«Фумаровая, малеиновая, яблочная, янтарная, лимонная кислоты» [86]

Продолжение Таблицы 2

Компонент сбора	Группа БАС	Соединение
Корни алтея	Стерины	«β-ситостерол» [86]
	Жирные кислоты	Метилвые эфиры нонановой, тетрадекановой, пентадекановой, гексадекановой, 9-гексадеценной, 2-гексил-циклопропаноктановой кислот, гептадекановая кислота, метиловый эфир (гептадекановая кислота), 7,10-октадекадиеновая кислота, метиловый эфир (7,10-октадекадиеновая кислота), 21,9 4,6-9,12-октадекадиеновая кислота (ω-6), метиловый эфир (9,12-октадекадиеновая кислота), 8,11-октадекадиеновая кислота, метиловый эфир (8,11-октадекадиеновая кислота), 9,12,15-октадекатриеновая кислота (ω-3), метиловый эфир (9,12,15-октадекатриеновая кислота), октадекановая кислота, метиловый эфир (октадекановая кислота), 10-нонадеценная кислота, метиловый эфир (10-нонадеценная кислота), циклопропаноктановая кислота, 2-октил, метиловый эфир (циклопропаноктановая кислота, 2-октил) [88]
	Полисахариды	Рамноза, галактоза, глюкоза, арабиноза, уроновые кислоты [82]
	Флавоноиды	Кверцетин, Рутин, Апигенин, Изорамнетин, Скополетин, кемпферол [81]
	Летучие соединения	Этилбензол, п-Ксилен, Пальострол, α-Лимонен, Луплур* , п-Крезол, Изооктил фталат* [10]
	Жирные кислоты	Пальмитиновая кислота, Стеариновая кислота [10]
Трава душицы обыкновенной	Компоненты эфирного масла (Терпеноиды)	Карвакрол (63,97%), п-цимол (12,63%), линалоол (3,67%), α-терпинеол (2,54%), (-)-терпинен-4-ол (2,24%) [94]
	Компоненты эфирного масла	Розмариновая, «олеаноловая, урсоловая кислоты» [97]
	Фенольные соединения	«Хлорогеновая, сириговая, ванилиновая, протокатеховая, галловая, п-кумаровая, феруловая, дикаффеоилхиновая, розмариновая кислоты, апигенин, апигенин-7-О-рутинозид, апигенин-7-О-глюкуронид, кверцетин, кверцетин-3-О-гексозид, лютеолин, лютеолин-7-О-глюкозид, лютеолин-7-О-глюкуронид, лютеолин-7-О-рутинозид, 4-метоксиапигенин, 6,7-диметоксискутеллареин» [73,79]

Примечание: символом «*» обозначены возможные маркерные соединения компонентов сбора

1.3. Стандартизация грудного сбора №1 и его компонентов

Следует отметить, что ГС №1 выпускается только в РФ, соответственно, монографии на данный лекарственный растительный препарат в зарубежных фармакопеях отсутствуют.

Анализируя ФС ГФ РФ XIV издания на компоненты грудного сбора №1, обнаружено, что основные БАС листьев мать-и-мачехи и корней алтея (слизь, крахмал, полисахариды) определяется качественными реакциями. На флавоноиды, содержащиеся в траве душицы обыкновенной, а также листьях мать-и-мачехи обыкновенной приведена ТСХ методика качественного анализа с использованием стандартного образца (СО) рутин [14].

Говоря же о методах количественного определения, в ФС «Алтея корни» количественно определяются только экстрактивные вещества (в соответствии с ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» методом холодного настаивания, не менее 25 %). В ФС «Мать-и-мачехи обыкновенной листья» приведена методика количественного определения суммы полисахаридов и свободных сахаров в пересчёте на глюкозу (не менее 10 %) методом спектрофотометрии (СФМ). В ФС «Душицы обыкновенной трава» приведена СФМ методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин (не менее 0,8 %), а также описано количественное определение эфирного масла (не менее 0,08 %) методом перегонки с водяным паром [5,14].

Подлинность корней алтея в монографии Европейской Фармакопеи 10 издания (ЕФ 10) определяется соответствием микроскопических признаков и качественной реакцией на слизь с раствором рутения красного. Количественное определение основных групп БАС не проводится, вместо этого в монографию включён показатель «Индекс набухания» [66]. В ЕФ 10 существует монография на траву душицы турецкой и душицы обыкновенной жёстковолосистой. Монография на листья мать-и-мачехи обыкновенной в данном издании фармакопеи отсутствует [67].

В Фармакопее США монографии на компоненты грудного сбора №1 отсутствуют [99].

В Таблице 3 приведена сравнительная характеристика некоторых показателей качества компонентов грудного сбора №1.

Таблица 3 – Стандартизация ЛРС компонентов грудного сбора №1 согласно ГФ РФ XIV издания

Компонент сбора	Раздел Фармакопейной статьи ГФ РФ XIV		
	Подлинность		Количественное определение
	Качественные реакции	Тонкослойная хроматография	
Листья мать-и-мачехи обыкновенной	Реакция со спиртом 96 % (полисахариды); Реакция с 0,5 % раствором карбазола и серной кислотой концентрированной (галактуроновая кислота)	Флавоноиды (стандартный образец рутина)	Сумма полисахаридов и свободных сахаров в пересчёте на глюкозу - спектрофотометрия (пикриновый метод)
Трава душицы обыкновенной	-	Флавоноиды (стандартный образец рутина)	Сумма флавоноидов в пересчёте на лютеолин - спектрофотометрия; Эфирное масло - перегонка с водяным паром
Корни алтея	Реакция с 10 % раствором натрия гидроксида (слизь); Реакция с раствором йода (крахмал)	-	Экстрактивные вещества, извлекаемые водой – гравиметрия

Как уже было сказано, ГФ РФ XIV издания предлагает лишь качественные реакции для определения подлинности сырья. В литературе представлены данные проведения идентификации полисахаридов, а точнее моносахаридного состава полисахаридных фракций после водно-спиртовой экстракции и гидролиза. Например, используя метод газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС), в листьях мать-и-мачехи обыкновенной были идентифицированы остатки простых сахаров, таких как арабиноза, рамноза, галактоза, а также уроновые кислоты [35].

В 2019-2020 гг. в СПХФУ (г. Санкт-Петербург, Россия) проводился ряд исследований по изучению химического состава грудного сбора №1 с помощью

физико-химических методов анализа (ТСХ, СФМ, ВЭЖХ). Были обнаружены в составе сбора рутин, гиперозид, лютеолин, цинарозид, хлорогеновая кислота, розмариновая кислота [42].

Исследователи из университета ИТМО (г. Санкт-Петербург, Россия) проводили анализ пептид-полисахаридных комплексов, полученных водной экстракцией слизи корней алтея методом инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения. Были обнаружены различные пептид-полисахаридные структуры, липидные составляющие [26].

1.4. Фармакологическая активность и применение в медицине

Грудной сбор №1 относится к фармакотерапевтической группе отхаркивающих средств растительного происхождения. Сбор используется для приготовления настоя, оказывающего отхаркивающее и противовоспалительное действия [9].

Мать-и-мачеха обыкновенная используется в народной и официальной медицине многих стран. В Китае бутоны мать-и-мачехи применяются в традиционной медицине на протяжении многих веков и по сей день для облегчения болезней дыхательных путей, в основном как отхаркивающее средство, а также успокаивающее средство при слизистой оболочке, кожных заболеваниях, ранах и прыщах [64].

Алтея корни известны муколитическим (отхаркивающим) действием настоя на их основе [69]. Помимо этого, сырьё обладает противовоспалительным [107], антибактериальным [76,52,49,53], противомикробным [93,49], противоязвенным эффектами [105], является антиоксидантом [104,107].

Трава душицы обыкновенной обладает противомикробным [101,65], антибактериальным [103,98], противогрибковым, диуретическим [85], антиоксидантным [90,51] и противовоспалительным эффектами [60], способствует улучшению пищеварения [83]. Также для травы душицы

обнаружено антидиабетическое действие [73].

ЛРС компонентов сбора активно используется в РФ. Помимо грудного сбора №1 на территории России зарегистрировано (по состоянию на 2021 год) 17 лекарственных препаратов, в состав которых алтея корни, мать-и-мачехи обыкновенной листья и душицы обыкновенной трава входят в качестве действующего вещества (Таблица 4). В Таблице 5 представлен перечень фармакологических эффектов некоторых комплексных препаратов на основе компонентов ГС №1.

Таблица 4 – Лекарственные препараты на основе компонентов грудного сбора №1, зарегистрированные на территории Российской Федерации (на основе данных ГРЛС) [6]

МНН	Торговое наименование	Форма выпуска	Производитель	Фармако-терапевтическая группа
<i>Монокомпонентные лекарственные растительные препараты</i>				
<i>Лекарственные препараты на основе ЛРС алтея</i>				
Алтея корни, Алтея лекарственного корни	Алтея корни	Корни измельченные; корни цельные	АО «Красногорсклексредства», ООО «ПКФ «Фитофарм», ФГУП "НПО «Микроген» Минздрава России, ООО Фирма «Здоровье»	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]
Алтея корней экстракт, Алтея лекарственного корней экстракт	Алтея сироп, Алтея сироп-АКОС, Мукалтинекс, Мукалтишка	Сироп	ООО «БЭГРИФ», ООО «Тульская фармацевтическая фабрика», ОАО «Флора Кавказа», ООО «Женел РД», ОАО «Синтез», ЗАО «ВИФИТЕХ», АО «Кировская фармацевтическая фабрика», ОАО «Фармстандарт-Лексредства»	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]
Алтея лекарственного травы экстракт	Мукалтин; Мукалтин-ЛекТ; Мукалтин Медисорб	Таблетки, таблетки диспергируемые	ОАО «Фармстандарт-Лексредства», ОАО «Фармстандарт-УфаВИТА», ОАО «ТХФЗ», АО «Медисорб», ОАО «Авексима», АО «Татхимфармпрепараты», АО «ПФК Обновление», ЗАО «ВИФИТЕХ», ОАО «Уралбиофарм», ЗАО «Московская	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]

Продолжение Таблицы 4

МНН	Торговое наименование	Форма выпуска	Производитель	Фармако-терапевтическая группа
			фармацевтическая фабрика», АО «АВВА РУС», ООО «Атолл», ООО НПО «ФармВИЛАР»; Украина: ООО «Опытный завод «ГНЦЛС»; Республика Казахстан: АО «Химфарм»	
<i>Лекарственные препараты на основе ЛРС мать-и-мачехи обыкновенной</i>				
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	Мать-и-мачехи листья; Мать-и-мачехи обыкновенной листья	Листья цельные, листья измельченные	ООО «Лек С+», АО «Красногорсклексредства», ООО Фирма «Фито-Бот», ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, ООО «Валерия», ООО «ПКФ «Фитофарм», ООО Фирма «Здоровье», АО «Ст.-Медифарм»	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]
<i>Лекарственные препараты на основе ЛРС душицы обыкновенной</i>				
Душицы обыкновенной трава	Душицы трава	Трава измельченная, трава-порошок и гранулы резано-прессованные	Россия: ООО Фирма «Фито-Бот», ООО «Лек С+», АО «Иван-чай», АО «Красногорсклексредства»	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]
<i>Комплексные лекарственные растительные препараты</i>				
<i>Лекарственное растительное сырье</i>				
Алтея лекарственного корни + Аниса обыкновенного плоды + Солодки корни + Сосны обыкновенной почки + Шалфея лекарственного листья	Грудной сбор №3	Сбор измельченный	Россия: Лек С+ ООО, ООО Фирма «Здоровье»	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]
Валерианы лекарственной корневища с корнями + Донника трава + Душицы обыкновенной трава + Пустырника трава + Тимьяна ползучего трава	Успокоительный сбор №3, Фитоседан №3 (успокоительный сбор №3)	Сбор измельченный, сбор-порошок	Россия: ООО Старт-Фито, ООО Фирма «Фито-Бот»	седативное средство растительного происхождения [6]

Продолжение Таблицы 4

МНН	Торговое наименование	Форма выпуска	Производитель	Фармако-терапевтическая группа
Мать-и-мачехи листья + Подорожника большого листья + Солодки корни	Грудной сбор №2; Фитопектол №2 (Грудной сбор №2)	Сбор измельченный, сбор порошок	Россия: АО «Красногорсклексредств а», ООО «Лек С+», АО «Ст.-Медифарм», ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, ООО Фирма «Здоровье», АО «Иванчай» [14]	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]
Багульника болотного побеги + Девясила корневища с корнями + Календулы лекарственной цветки + Мать-и-мачехи листья + Мята перечной листья + Подорожника большого листья + Ромашки аптечной цветки + Солодки корни	Отхаркивающий сбор	Сбор растительный-порошок; сбор растительный-сырье измельченное	Россия: ООО «Лек С+», ФГУП «НПО "Микроген» Минздрава России	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]
Багульника болотного побеги + Девясила корневища с корнями + Календулы лекарственной цветки + Мать-и-мачехи листья + Мята перечной листья + Подорожника большого листья + Ромашки аптечной цветки + Солодки корни	Отхаркивающий сбор	Сбор растительный-порошок; сбор растительный-сырье измельченное	Россия: ООО «Лек С+», ФГУП «НПО "Микроген» Минздрава России	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]
Лапчатки прямостоячей корневища + Мать-и-мачехи листья + Подорожника большого листья + Тысячелистника обыкновенного трава + Шалфея лекарственного листья	Фитодиарин	Сбор измельченный, сбор порошок	Россия: ООО Фирма «Здоровье»	растительного происхождения средство (вяжущее, противомикробное, противовоспалительное действие) [6]

Продолжение Таблицы 4

МНН	Торговое наименование	Форма выпуска	Производитель	Фармако-терапевтическая группа
<i>Экстракты</i>				
Аллея лекарственного корней экстракт + Аммония хлорид + Натрия бензоат + Натрия гидрокарбонат + Солодки корней экстракт	Микстура от кашля для детей сухая	Порошок для приготовления раствора для приема внутрь	Россия: ООО «Тулская фармацевтическая фабрика», ЗАО «ФП «Мелиген», ООО «Атолл», ЗАО «ВИФИТЕХ», ООО «ЛЮМИ», ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика»	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]
Аллея корни + Дуба кора + Одуванчика лекарственного трава + Ореха грецкого листья + Ромашки цветки + Тысячелистника трава + Хвоща полевого трава	Тонзилгон Н	Таблетки, покрытые оболочкой	Германия: Бионорика СЕ	иммуностимулирующее средство растительного происхождения [6]
Адатоды сосудистой листьев экстракт + Аллея лекарственного цветков экстракт + Альпинии галанги корневищ экстракт + Зизифуса настоящего плодов экстракт + Иссопа лекарственного листьев экстракт + Кордии широколистной плодов экстракт + Оносмы прицветковой листьев и цветков экстракт + Перца длинного плодов и корней экстракт + Солодки голой корней экстракт + Фиалки душистой цветков экстракт	Линкас; Линкас БСС	Сироп	Пакистан: Хербион Пакистан Прайвет Лимитед	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]
Душицы обыкновенной травы экстракт + Клещевины обыкновенной семян масло + Моркови дикой семян экстракт + Мята перечной листьев масло + Пихты сибирской хвои масло + Хмеля обыкновенного соплодий экстракт	Уролесан	Капли для приема внутрь; капсулы	Россия: ООО «Арт-Фарм»	отхаркивающее средство растительного происхождения [6]

Продолжение Таблицы 4

МНН	Торговое наименование	Форма выпуска	Производитель	Фармако-терапевтическая группа
Душицы обыкновенной трава + Пустырника трава + Тысячелистника обыкновенного трава	Бальзам МОСКОВИЯ	Эликсир	Россия: ПАО «Брынцалов-А»	седативное средство растительного происхождения [6]
Душицы обыкновенной трава + Календулы лекарственной цветки + Крапивы двудомной листья + Мелиссы лекарственной трава + Тимьяна ползучего трава + Шиповника плоды	Бальзам "Первопрестольный"	Эликсир	Россия: ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика»	растительного происхождения средство (спазмолитическое, седативное, отхаркивающее, противовоспалительное, желчегонное действие) [6]
Душицы травы экстракт + Касторовое масло + Моркови дикой семян экстракт + Мята перечной масло + Пихтовое масло + Хмеля экстракт	Урохол	Капли для приема внутрь	Россия: ЗАО «ВИФИТЕХ»	спазмолитическое средство растительного происхождения [6]

Таблица 5 – Фармакологическое действие некоторых зарегистрированных в РФ комплексных препаратов на основе компонентов ГС №1 (по данным ГРЛС) [6]

Компонент сбора	Торговое наименование	Лекарственная форма	Фармакологическое действие
Аллея корни	Грудной сбор №3	Сбор измельченный	Настой сбора обладает отхаркивающим и противовоспалительным действием
Душицы трава	Успокоительный сбор №3, Фитоседан №3 (успокоительный сбор №3)	Сбор измельченный, сбор-порошок	Настой сбора оказывает седативное (успокаивающее), спазмолитическое действие [6]
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	Грудной сбор №2; Фитопектол №2 (Грудной сбор №2)	Сбор измельченный, сбор порошок	Настой сбора оказывает отхаркивающее, противовоспалительное действие [6]
Мать-и-мачехи обыкновенной	Отхаркивающий сбор	сбор растительный-порошок; сбор	Настой сбора оказывает отхаркивающее, бронхолитическое и противовоспалительное действие,

Продолжение Таблицы 5

ЛРС (компонент)	Торговое наименование	Лекарственная форма	Фармакологическое действие
листья		растительный-сырье измельченное	обладает слабыми седативными свойствами [6]
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	Фитодиарин	Сбор измельченный, сбор порошок	Отвар сбора оказывает антимикробное (обладает бактериостатической активностью в отношении грамположительных бактерий рода <i>Staphylococcus</i> , грамотрицательных бактерий родов <i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Pseudomonas</i> ; фунгистатической активностью в отношении мицелиальных грибов рода <i>Microsporum</i> и рода <i>Trichophyton</i>), вяжущее, противовоспалительное действие
Аллея корни	Микстура от кашля для детей сухая	Порошок для приготовления раствора для приема внутрь	Комбинированное лекарственное средство, оказывает отхаркивающее, противокашлевое и противовоспалительное действие. Оказывает обволакивающее, смягчающее, отхаркивающее, противовоспалительное действие
Аллея корни	Тонзилгон Н	Капли для приема внутрь; Таблетки, покрытые оболочкой	Антисептическое средство растительного происхождения. Препарата обладает противовоспалительным и антисептическим действием, способствует уменьшению отека слизистой оболочки дыхательных путей
Аллея цветки	Линкас; Линкас БСС	Сироп	Комбинированный растительный препарат. Снижает интенсивность и увеличивает продуктивность кашля, оказывает отхаркивающее, муколитическое и противовоспалительное действие
Душицы обыкновенной трава	Уролесан®	капли для приема внутрь; капсулы	Комбинированный препарат. Обладает спазмолитическими и противомикробными свойствами, повышает диурез, подкисляет мочу, увеличивает выведение мочевины и ионов хлора, усиливает желчеобразование и желчеотделение, улучшает печеночный кровоток

Продолжение Таблицы 5

ЛРС (компонент)	Торговое наименование	Лекарственная форма	Фармакологическое действие
Душицы обыкновенной трава	Бальзам МОСКОВИЯ®	Эликсир	Комбинированный препарат, обладает седативным действием, умеренно снижает артериальное давление (АД), нормализует функцию желудочно-кишечного тракта (ЖКТ)
Душицы обыкновенной трава	Демидовский эликсир	Эликсир	Оказывает спазмолитическое и желчегонное (холеретическое) действие, стимулирует секрецию и перистальтику ЖКТ, обладает ветрогонным, а также общеукрепляющим действием
Душицы обыкновенной трава	Урохол	Капли для приема внутрь	Комбинированный препарат. Обладает спазмолитическими и противомикробными свойствами, повышает диурез, подкисляет мочу, увеличивает выведение мочевины и ионов хлора, усиливает желчеобразование и желчеотделение, улучшает печеночный кровоток
Душицы обыкновенной трава	Демидовский сироп	Сироп	Обладает спазмолитическим, желчегонным действием, стимулирует секреторную функцию и моторику ЖКТ; кроме того, обладает общеукрепляющим действием
Душицы обыкновенной трава	Бальзам "Первопрестольный"	Эликсир	Комбинированный препарат, оказывает спазмолитическое, отхаркивающее, желчегонное, противовоспалительное и седативное действие [6]

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. В ходе проведённого анализа литературы было установлено, что ГС №1 является зарегистрированным на территории РФ комплексным лекарственным растительным препаратом. Информация из общедоступных источников отражает химический состав компонентов сбора, но исследований по изучению перехода БАС компонентов в сбор с учётом их процентного содержания, а также в препарат – настой – не обнаружено.

2. Согласно литературным данным в компонентах ГС №1 содержатся разнообразные группы БАС – фенольные соединения, полисахариды, флавоноиды, дубильные вещества. Однако вопросам стандартизации ГС №1 уделено недостаточно внимания.

3. ГС №1 – комплексный лекарственный растительный препарат, обладающий противовоспалительным действием за счёт наличия флавоноидов в составе, а также муколитическим – за счёт присутствия полисахаридов.

4. Существует потребность в более детальном изучении БАС ГС №1, в настоящее время присутствующем на рынке РФ, с применением современных физико-химических методов анализа. В связи с этим, разработка современной нормативной документации на ГС №1 представляется весьма актуальной.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика объектов исследования

В качестве объектов исследования был выбран грудной сбор №1 и его составляющие – алтея корни, душицы обыкновенной трава, мать-и-мачехи обыкновенной листья. Для всестороннего изучения были отобраны вышеуказанные образцы, выпускаемые производителями АО «Красногорсклексредства» и ООО Фирма «Здоровье» в измельчённом виде (измельчённое сырьё) и в фильтр-пакетах (сырьё порошок). Образцы были приобретены в аптечных сетях в 2019-2022 гг. [14].

Настои сбора и его компонентов готовили из выпускаемого измельчённого растительного сырья в соответствии с инструкциями по применению и ГФ XV издания [6,8].

2.2. Методы анализа, оборудование

Анализ внешних и микроскопических признаков сбора и его компонентов проводился согласно требованиям ГФ РФ XV ОФС «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения», ОФС «Сборы» и другие ОФС на морфологические группы сырья. Не остались без внимания последние достижения в области микроскопического анализа сырья [38,39].

Исследование проводилось на микроскопе Leica DM1000 LED (окуляры 10x / 20 мм; 10x / 22 мм; 10x / 25 мм; объективы план-ахромат 2.5x, 4x/5x, 10x, 20x, 40x, 50x Oil, 63x, 100x Oil; полуапохромат: 2.5x, 5x, 10x, 20x, 40x, 50x Oil, 63x, 100x Oil). Снимки получались с помощью цифровой фотокамеры Leica. Обработка изображений проводилась с помощью программного обеспечения Leica Application Suite.

Предварительная идентификация групп БАС ГС№1 и его компонентов, а также настоя оценивалась с применением качественных реакций, указанных в соответствующих ФС, а также согласно общепринятым методикам анализа [5,6]. Водное извлечение ЛРС ГС №1 для выполнения качественных реакций готовили согласно ГФ РФ XIV ФС.2.5.0027.15 «Мать-и-мачехи обыкновенной листья» [45].

Для проведения ТСХ-анализа флавоноидов и простых сахаров использовали пластинки ТСХ, силикагель 60, УФ 254, на алюминии, Merck (Millipore, Sigma-Aldrich, Supelco). Подвижные фазы, растворители и растворы реактивов готовились с использованием химических реагентов классов чистоты «чда» и «хч». Методики приготовления представлены в тексте диссертации, а также в соответствующих разделах.

Определение влажности ЛРС грудного сбора №1 и его компонентов проводилось в соответствии с требованиями ГФ РФ XV ОФС.1.5.3.0007 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» [32].

Сухой остаток настоев грудного сбора №1 и его компонентов определяли по методике ГФ РФ XV ОФС.1.4.1.0018 «Настои и отвары» [30].

Содержание экстрактивных веществ в ГС №1, листьях мать-и-мачехи и траве душицы определяли в соответствии с ГФ РФ XV ОФС.1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», методика 1 [31]. Содержание экстрактивных веществ в корнях алтея определяли в соответствии с ГФ РФ XIV ФС.2.5.0001.15 «Алтея корни» [43].

Количественное определение суммы полисахаридов грудного сбора №1 и его компонентов проводили с использованием гравиметрической методики в соответствии с ГФ РФ XIV ФС.2.5.0032.15 «Подорожника большого листья».

Содержание дубильных веществ определяли в соответствии с ГФ РФ XV ОФС «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения», метод 1 [14,33].

Определение суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV ФС.2.5.0093.18 «Рябины обыкновенной плоды» [47].

В работе использовалось следующее вспомогательное оборудование:

- Дистиллятор воды LISTON A1110
- Центрифуга ОПн-8УХЛ4.2
- Баня водяная лабораторная ПЭ-4300
- Весы аналитические Mettler Toledo ME204/A
- Насос вакуумный НВМ-0.33II ХС

2.3. Изучение химического состава методом инфракрасной спектроскопии

Скрининг химического состава ГС№1 и его компонентов был проведён с применением метода инфракрасной спектроскопии (ИК-НПВО). Анализ проводился на ИК-Фурье спектрофотометре Tensor 37 фирмы Bruker (Германия) с алмазным НПВО элементом. Спектры поглощения образцов получали в диапазоне от 4000 до 600 см⁻¹. Данные интерпретировались с помощью программного обеспечения OPUS.

2.4. Определение полисахаридов и свободных сахаров

Количественное определение полисахаридов грудного сбора №1 и его компонентов проводили с использованием гравиметрической методики в соответствии с ГФ XIV ФС.2.5.0032.15 «Подорожника большого листа» [46].

Определение содержания суммы полисахаридов и свободных сахаров ГС №1 и его компонентов проводилось с использованием методики, описанной в главе 5 настоящей работы.

2.5. Определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот

Определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот (ГКК) проводили методом ультраэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным и УФ-детектированием (УЭЖХ-УФ-МС/МС). Более подробно условия представлены в работах [12].

Также проводилась идентификация флавоноидов методом ТСХ, условия проведения испытания описаны в главе 4 настоящей работы.

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин проводили методом СФМ с использованием методики ГФ XIV ФС.2.5.0012.15 «Душицы обыкновенной трава» [44] и методики, описание которой приведено в главе 5 настоящей работы.

2.6. Определение аминокислот

Определение аминокислот проводилось методом ВЭЖХ. Условия проведения испытания подробно описаны в работе [2].

2.7. Определение жирнокислотного состава

Определение жирных кислот (ЖКС) ГС №1 проводили методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором (ГХ-ПИД).

Пробоподготовка ЛРС/настоя. Навеску образца в 1-2 г помещали в пробирку вместимостью 50 мл, прибавляли по 20 мл смеси хлороформ-метанол (2:1 по объёму), плотно закрывали пробкой и взбалтывали в течение 1,5 ч на лабораторном шейкере. Затем приливали 6,6 мл дистиллированной воды, перемешивали и центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин.

Нижний хлороформный слой липофильной фракции каждого образца отбирали в предварительно доведенные до постоянной массы и взвешенные на

аналитических весах круглодонные колбы вместимостью около 50 мл. Хлороформ из колб отгоняли на вакуумном ротационном испарителе. Оставшуюся липофильную фракцию сушили до постоянной массы (10-20 мин) при температуре 100-105 °С, охлаждали в эксикаторе и взвешивали колбу на аналитических весах до постоянной массы.

Около 10 мг липофильной фракции каждого образца были добавлены в пробирки с завинчивающейся крышкой, на которых была зафиксирована масса. Затем в пробирки было добавлено 850 мкл раствора внутренних стандартов в метаноле, включающего метиловый эфир ундекановой кислоты (С11:0-МЭ, 0,564 мг/мл) и глицерил тритридеcanoат (ТАГС13:0, 0,5 мг/мл). К полученному раствору добавлялся бутилгидрокситолуол (0,011 мг/мл) как антиокислитель. Далее добавлялись метанол (1 мл), хлороформ (20 мкл), ацетилхлорида (20 мкл). Пробирки тщательно закрывались и, после интенсивного взбалтывания, помещались в сушильный шкаф на 1 ч при температуре 80 °С для метилирования. После охлаждения проб до комнатной температуры к ним добавляли 2,5 мл гексана, 100 мкл воды и интенсивно перемешивали на лабораторном встряхивателе около 10 секунд. После разделения состава на два слоя, 1 мл верхнего слоя гексана, содержащего метиловые эфиры, переносили в виалы для дальнейшего хроматографического анализа методом газовой хроматографии.

Условия проведения испытания:

Температурная программа	0-5 мин – 140 °С
	5-25 мин – 220 °С
	25-50 мин – 220 °С
Температура детектора	240 °С
Температура инжектора	260 °С
Газ-носитель	Азот, скорость 0,9 мл/мин
Деление потока	30:1
Объём пробы	1 мкл

Сбор и обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения Agilent ChemStation Rev.B.04.03 и «Microsoft Excel 2007».

2.8. Определение компонентного состава эфирного масла

Компонентный состав эфирного масла грудного сбора №1 проводили методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ/МС). Пробоподготовку проводили с помощью гомогенизации 3 г образца, к которому добавлялось 7 мл воды. Полученный раствор перемешивался, герметично укупоривался, нагревался 30 мин на плитке при 110 °С. Дальнейшие условия проведения анализа подробно описаны в работе [24].

2.9. Определение элементного состава

Элементный состав ГС №1 и его компонентов определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС). Условия проведения испытания подробно описаны в работе [11].

2.10. Реактивы и стандартные образцы

Для проведения исследований использовались реактивы и растворители соответствующего качества и соответствующие требованиям НД [5,6], а также химически чистые стандартные образцы (Таблица 6).

Таблица 6 – Стандартные образцы индивидуальных веществ

Наименование	CAS	Производитель	Чистота
<i>Флавоноиды</i>			
Рутин	153-18-4	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
Лютеолин	491-70-3	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
Лютеолин-7-О-глюкозид	5373-11-5	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
Кверцетин	117-39-5	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
Гиперозид	482-36-0	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
<i>Гидроксикоричные кислоты</i>			
Хлорогеновая кислота	327-97-9	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
Кофейная кислота	501-16-6	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
<i>Углеводы</i>			
Арабиноза	50-99-7	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
Глюкоза	59-23-4	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%

Продолжение Таблицы 6

Наименование	CAS	Производитель	Чистота
Галактоза	57-48-7	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
Ксилоза	57-50-1	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
Рамноза	28697-53-2	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
Галактуроновая кислота	3458-28-4	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
Глюкуроновая кислота	58-86-6	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%
<i>Аминокислоты</i>			
Стандартная смесь аминокислот	-	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%

2.11. Валидация методов и обработка полученных результатов

Валидация методов определения групп БАС проводилась в соответствии с ГФ XIV ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик», а также с использованием справочных пособий [4,6].

Статистическая обработка результатов исследований проводилась согласно требованиям ГФ XIV ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [29] с использованием ПО Microsoft Office Excel 2010.

ГЛАВА 3. МАКРО- И МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

3.1. Анализ внешних признаков грудного сбора №1

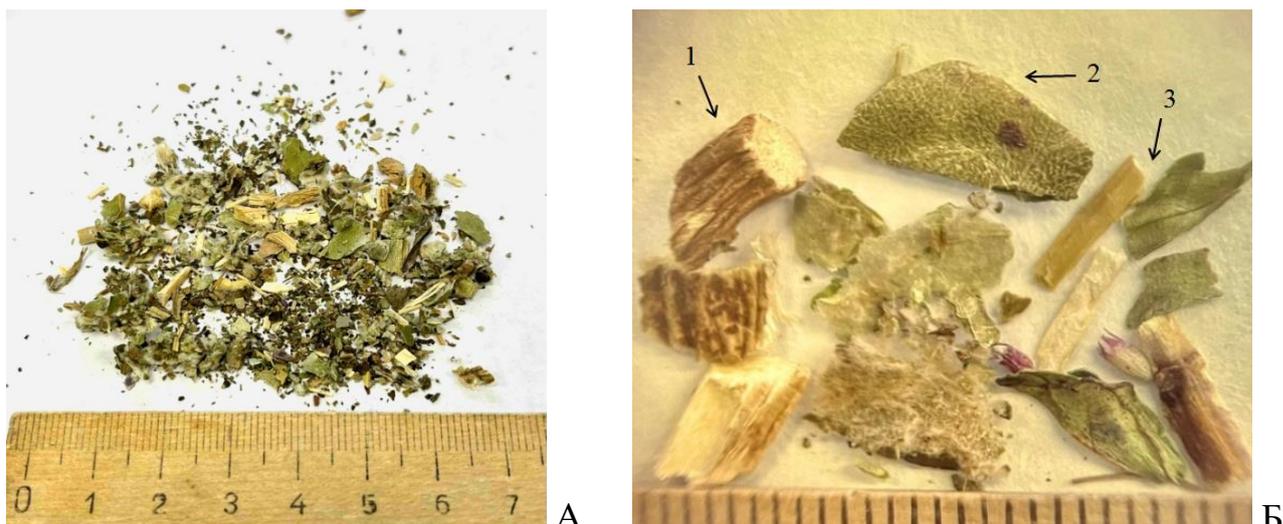
В ранее действующем нормативном документе внешние и микроскопические признаки сбора были описаны недостаточно подробно. В связи с этим нами был проведён анализ внешних признаков компонентов и сбора, выпускаемого в пачках и фильтр-пакетах. Исследование проводилось невооружённым глазом и с использованием бинокля (увеличение 8х).

Сбор измельчённый

При рассмотрении ГС №1 невооружённым глазом обнаруживаются кусочки сырья различной формы от белого до зеленовато-коричневого, а также фиолетового цвета. Просмотр того же образца при помощи бинокля с увеличением 8х позволил идентифицировать кусочки волокнистых корней различной формы от белого до желтовато-белого цвета, наблюдаются остатки пробки коричневого цвета. Перечисленные признаки позволяют идентифицировать корни алтея в изучаемом образце.

Мать-и-мачехи обыкновенной листья обнаружены в сборе по кусочкам листьев различной формы с извилисто-морщинистой поверхностью от зелёного до желтовато-зелёного цвета. У листьев одна сторона беловолокно-опушена, с коричневатой-серой и беловато-серой мелкоямчатой поверхностью, а другая – голая. Также присутствуют кусочки коричневатых-зелёных черешков.

Обнаруженные в сборе кусочки коричневатых-зелёных стеблей, продольно-расщеплённых с беловатой губчатой сердцевинкой, кусочки зелёных листьев с коричневатыми точками, зеленовато-фиолетовые чашечки доказывают присутствие травы душицы обыкновенной в составе сбора. Наглядно внешние признаки ГС №1 представлены на Рисунке 1.



1 – корни алтея; 2 – листья мать-и-мачехи обыкновенной; 3 – трава душицы обыкновенной

Рисунок 1 – Внешний вид грудного сбора №1 при рассмотрении невооружённым глазом (А) и с использованием бинокля (увеличение 8х) (Б)

Дальнейшее детальное рассмотрение внешнего вида составляющих сбора проводили с помощью разделения на компоненты (ОФС «Сборы», ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», ОФС «Листья», ОФС «Травы», ОФС «Корни, корневища, луковичи, клубни, клубнелуковичи» [6]): отбирали пробу и пинцетом отделяли кусочки компонентов сбора.

При рассмотрении корней алтея невооружённым глазом и с помощью бинокля обнаруживаются кусочки волокнистых корней различной формы белого, желтовато-белого или серовато-белого цвета с остатками коричневой пробки (Рисунок 2).



Рисунок 2 – Внешний вид корней алтея при рассмотрении невооружённым глазом (А) и с использованием бинокля (увеличение 8х) (Б)

При рассмотрении листьев мать-и-мачехи обыкновенной невооружённым глазом и с помощью бинокля обнаруживаются кусочки листьев с коричневато-желтой мелкоямчатой поверхностью и беловолочно-опушенных или голых (волоски опали при измельчении) с беловато-серой, зеленовато-серой поверхностью с нижней стороны; кусочки фиолетово-зелёных черешков (Рисунок 3).

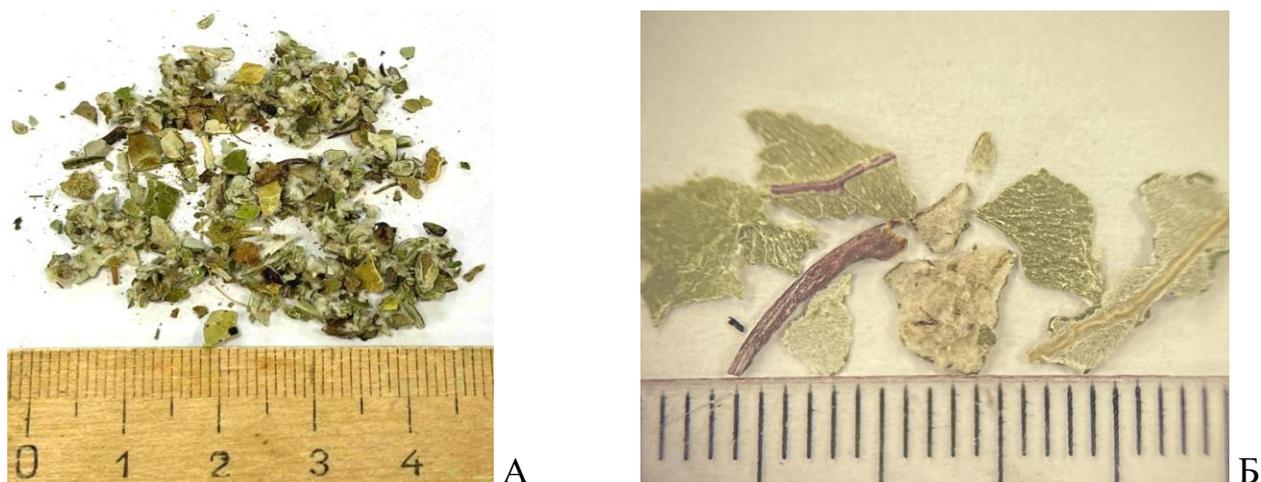


Рисунок 3 – Внешний вид листьев мать-и-мачехи обыкновенной при рассмотрении невооружённым глазом (А) и с использованием бинокля (увеличение 8х) (Б)

При рассмотрении травы душицы обыкновенной невооружённым глазом и с помощью бинокля обнаруживаются кусочки стеблей коричневато-зелёных с фиолетовым оттенком; кусочки зелёных листьев с блестящими коричневатыми точками (погруженные желёзки) и белесыми волосками; кусочки зеленовато-фиолетовых чашечек (Рисунок 4).

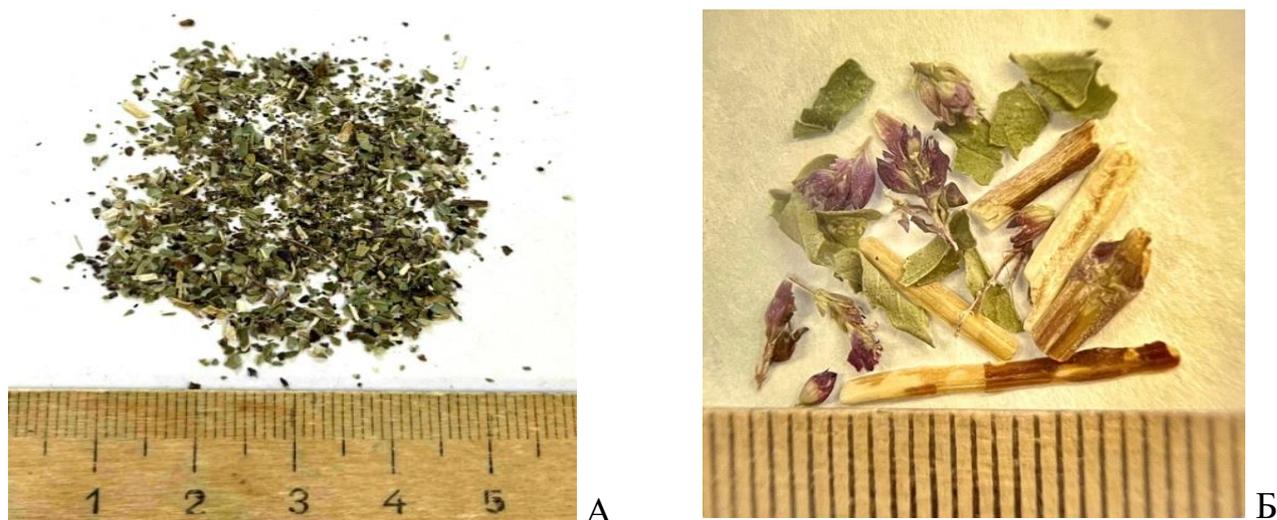


Рисунок 4 – Внешний вид травы душицы обыкновенной при рассмотрении невооружённым глазом (А) и с использованием бинокля (увеличение 8х) (Б)

Сбор-порошок

При рассмотрении сбора-порошка невооружённым глазом и с помощью бинокля обнаруживаются кусочки сырья различной формы белого, серовато-белого, зеленовато-серого, серовато-зелёного, зеленовато-коричневого, коричневого и фиолетового цвета (Рисунок 5).

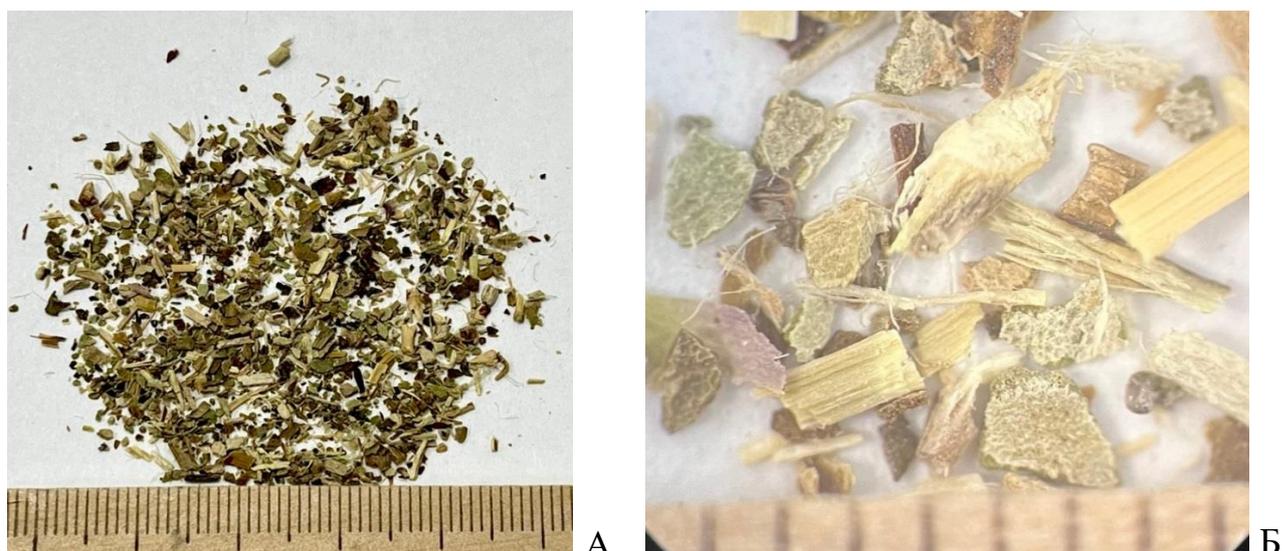
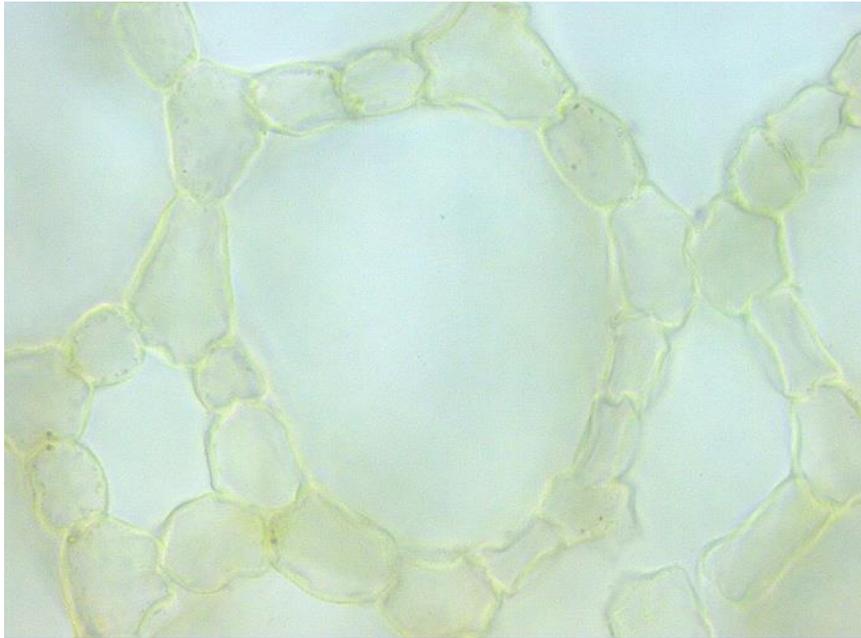


Рисунок 5 – Внешний вид сбора-порошка при рассмотрении невооружённым глазом (А) и с использованием бинокля (увеличение 8х) (Б)

3.2. Микроскопический анализ грудного сбора №1

Сбор измельчённый

Для мать-и-мачехи обыкновенной листьев характерны аномоцитный устьичный комплекс, клетки аэренхимы, расположенные однорядными цепочками, образующими крупные воздухоносные полости, крупные жилки листа и черешка, вдоль которых видны секреторные каналы со светло-желтым или коричневато-желтым содержимым, крупные многоугольные клетки эпидермиса с чётковидными утолщениями боковых стенок, простые бичевидные волоски, которые могут переплетаться между собой. Перечисленные признаки позволяют определить наличие данного ЛРС в исследуемом сборе (Рисунки 6-8).



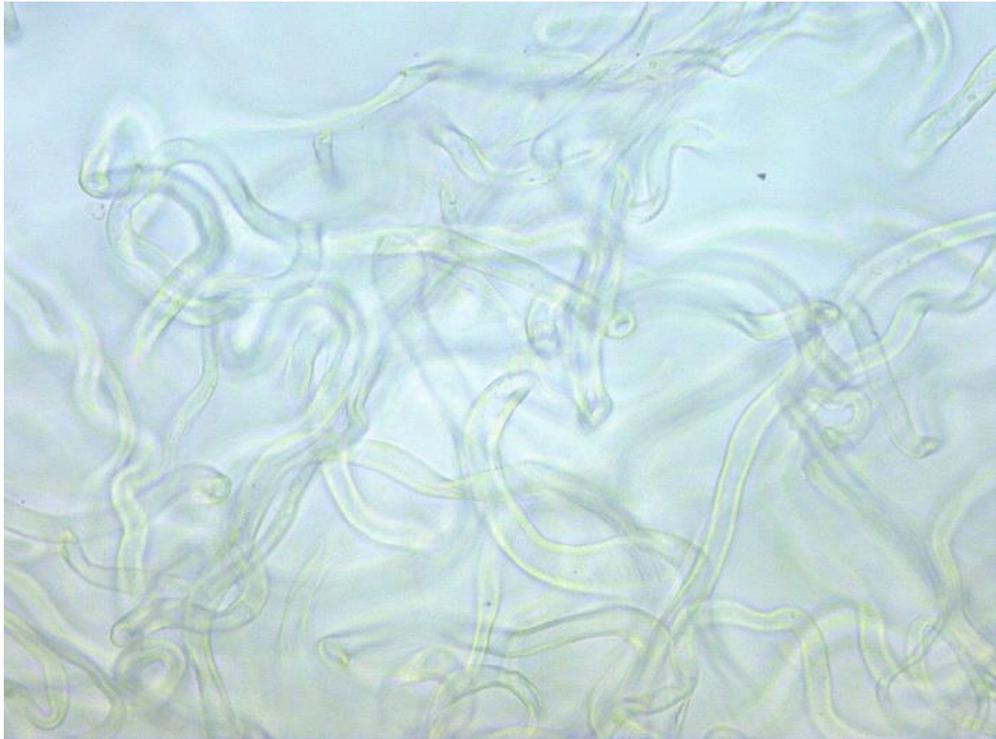
Увеличение 200х

Рисунок 6 – Фрагмент аэренхимы листа мать-и-мачехи обыкновенной



Увеличение 200х

Рисунок 7 – Фрагмент эпидермы нижней части листа мать-и-мачехи обыкновенной



Увеличение 100х

Рисунок 8 – Фрагмент простых шнуровидных волосков листа мать-и-мачехи

Трава душицы обыкновенной идентифицируется в грудном сборе №1 благодаря наличию следующих признаков: дицитный устьичный комплекс, простые и головчатые волоски, расположенные по всей листовой пластинке, округлые эфирномасличные желёзки (Рисунки 9-11).



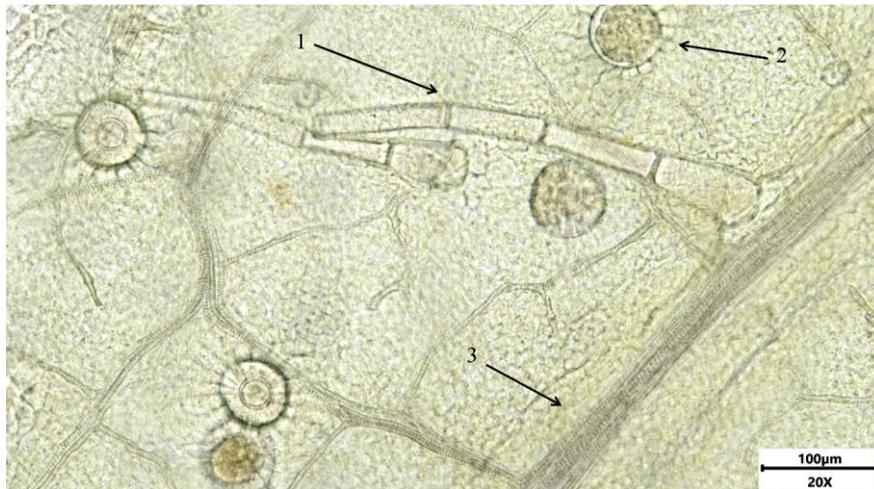
Фрагмент чашелистика цветка
(увеличение 100х)

1 – простой остроконусовидный
волосок; 2 – место прикрепления
простого волоска; 3 – эфирномасличная
желёзка



Фрагмент чашелистика цветка
(увеличение 40х)

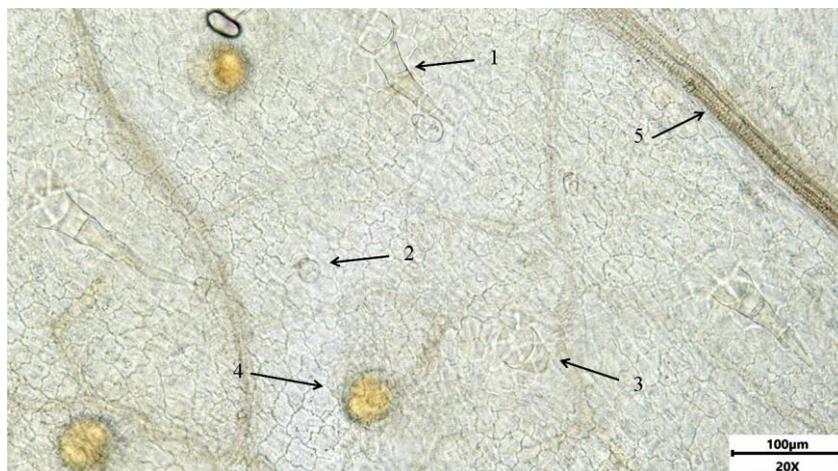
Рисунок 9 – Основные диагностические признаки травы душицы обыкновенной



Фрагмент листа (увеличение 200х)

1 – простой многоклеточный волосок с утолщённой стенкой, 2 – эфирномасличная желёзка, 3 – сосуды

Рисунок 10 – Основные диагностические признаки травы душицы обыкновенной



Фрагмент листа (увеличение 200х)

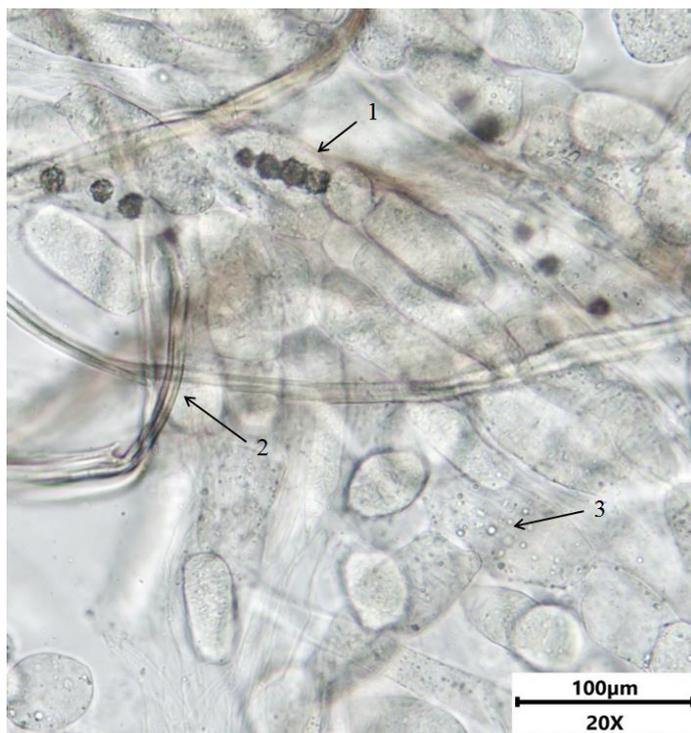
1 – простой волосок, 2 – головчатые волоски на одноклеточной ножке с одноклеточной головкой, 3 – место прикрепления простого волоска, 4 – эфирномасличные желёзки, 5 – сосуды

Рисунок 11 – Основные диагностические признаки травы душицы обыкновенной

Также диагностическими признаками травы душицы обыкновенной

являются: фрагменты эпидермы стебля, фрагменты венчика и чашелистика.

Характерными анатомо-диагностическими характеристиками корней алтея для его идентификации в ГС №1 можно назвать многочисленные друзы оксалата кальция в паренхиме, фрагменты лестничных и сетчатых сосудов, группы лубяных волокон, крахмальные зёрна в клетках, вне клеток и во фрагментах паренхимы (частично клейстеризованные) (Рисунок 12).



Увеличение 200х

1 – клетки паренхимы с друзами оксалата кальция, 2 – группы волокон, 3 – клетки паренхимы с частично клейстеризованными крахмальными зёрнами

Рисунок 12 – Основные диагностические признаки корня алтея

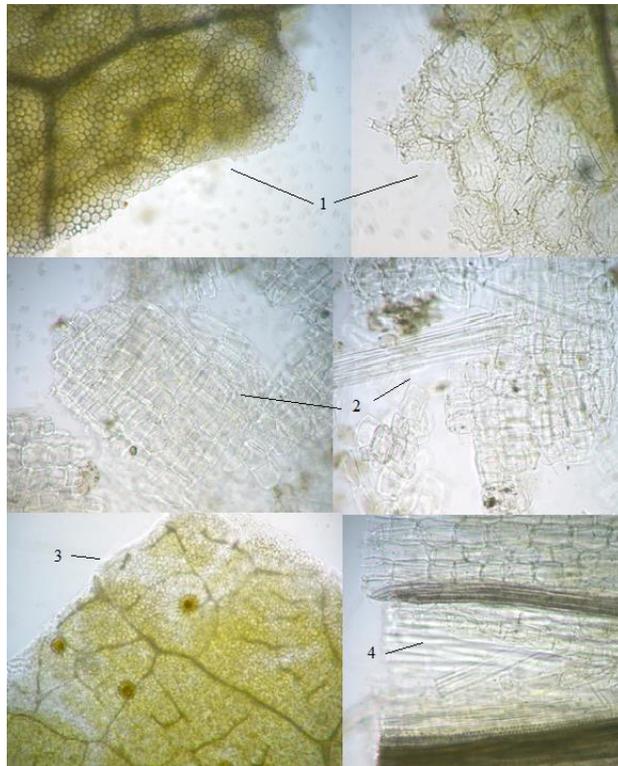
Сбор-порошок

Так как грудной сбор №1 выпускается в форме сбора-порошка в фильтр-пакетах, рекомендуется проанализировать мелкую фракцию микроскопическим

методом. На анализ брали сбор-порошок, нагревали с натрия гидроксида раствором 2,5% до кипения, затем промывали и микроскопировали.

При анализе мелкой фракции сбора возможна идентификация основных описанных диагностических признаков всех компонентов сбора. Но значительную часть фрагментов, обнаруженных при анализе, идентифицировать не удастся (Рисунок 13).

Для идентификации крахмала в корнях алтея применялась гистохимическая реакция с раствором Люголя (Рисунок 14).



Увеличение 40х

1 – листья мать-и-мачехи обыкновенной, 2 – корни алтея, 3 – лист травы душицы обыкновенной, 4 – стебель травы душицы обыкновенной

Рисунок 13 – Микропрепараты компонентов порошка грудного сбора №1



Увеличение 200х

1 – группы волокон, 2 – клетки паренхимы с частично клейстеризованными крахмальными зёрнами, окрашенными в фиолетовый цвет

Рисунок 14 – Корень алтея после проведения гистохимической реакции на крахмал

Таким образом, определены основные признаки, по которым можно идентифицировать отдельные компоненты сбора-порошка:

1. *Мать-и-мачехи обыкновенной листья*: фрагменты клеток аэренхимы, расположенных однорядными цепочками, образующими крупные воздухоносные полости, устьица аномоцитного типа;

2. *Корни алтея*: фрагменты пробки, фрагменты паренхимы с клетками со слизью, фрагменты паренхимы с частично клейстеризованными крахмальными зёрнами, крахмальные зёрна, фрагменты паренхимы с друзами оксалата кальция, группы лубяных волокон, фрагменты сетчатых и лестничных сосудов;

3. *Трава душицы обыкновенной*: диацитный устьичный комплекс,

эфирномасличные желёзки, простые многоклеточные волоски с утолщённой стенкой, головчатые волоски на одноклеточной ножке с одноклеточной головкой, фрагменты чашелистика, фрагменты венчика, фрагменты стебля.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. Определены характеристики подлинности компонентов и сбора, выпускаемых в пачках и фильтр-пакетах. Дополнительными анатомо-диагностическими признаками при рассмотрении сбора невооружённым глазом и при помощи бинокля являются: смесь кусочков сырья различной формы от белого до зеленовато-коричневого и фиолетового цвета. Индивидуальные компоненты сбора можно идентифицировать по кусочкам корней различной формы от белого до желтовато-белого цвета с фрагментами пробки (корни алтея), кусочкам листьев различной формы от зелёного до жёлто-зелёного цвета с извилисто-морщинистой поверхностью, беловоилочно-опушённых с одной стороны, голых – с другой (мать-и-мачехи обыкновенной листьев). Кусочки коричневатозелёных стеблей, продольно-расщеплённых с беловатой губчатой сердцевинкой, кусочки зелёных листьев с коричневатыми точками, зеленовато-фиолетовые чашечки являются основными диагностическими признаками травы душицы обыкновенной в составе сбора.

2. Проведён микроскопический анализ компонентов и сбора, выпускаемых в пачках и фильтр-пакетах, определены основные диагностические признаки. Установлено, что листья мать-и-мачехи обыкновенной можно идентифицировать по фрагментам клеток аэренхимы, расположенных однорядными цепочками, образующими крупные воздухоносные полости, аномоцитного типа устьичному комплексу. Зёрна крахмала, клетки со слизью, фрагменты паренхимы с друзами оксалата кальция являются основными диагностическими признаками корней алтея. Душицы обыкновенной трава может быть обнаружена в сборе по следующим диагностическим признакам: головчатые волоски с одноклеточной головкой на одноклеточной ножке, простые многоклеточные волоски с утолщённой стенкой, эфирномасличные желёзки.

ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

4.1. Предварительный скрининг

По итогам анализа литературных данных было выявлено, что компонентный состав БАС грудного сбора №1 и его составляющих изучен не в полном объёме. Особое внимание было уделено основной группе БАС каждого из компонентов: флавоноидам в траве душицы обыкновенной, полисахаридам в листьях мать-и-мачехи обыкновенной, экстрактивным веществам в корнях алтея. Для идентификации химических соединений ГС №1 в нашей работе проводился предварительный скрининг групп БАС с помощью качественных реакций, которые проводились как на сырье, так и на водном извлечении, приготовление которого описано в Главе 2 настоящей работы. Для настоев ГС №1 и его компонентов, приготовленных из измельчённого сырья и сырья-порошка проводились аналогичные реакции. Результаты фитохимического анализа гидрофильных БАС ГС №1 представлены на Рисунках 15-16.



Рисунок 15 – Качественные реакции ГС №1 измельчённого и порошка



Настой ИМП ЛП – изготовлен в соответствии с требованиями инструкции по медицинскому применению ЛП
 Настой ОФС – изготовлен в соответствии с требованиями ГФ РФ ОФС «Настои и отвары»

Рисунок 16 – Качественные реакции водных извлечений грудного сбора №1

В ходе предварительного фитохимического анализа было выявлено в ЛРС грудного сбора №1 содержание комплекса различных групп БАС: полисахариды, простые сахара, слизи, крахмал, галактурановая кислота, флавоноиды, аминокислоты, сапонины, дубильные вещества, азотсодержащие соединения.

4.2. Анализ химического состава грудного сбора №1 и его компонентов с помощью инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения

С помощью инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (ИК-НПВО спектроскопии) был проведён анализ химического состава грудного сбора №1 и его компонентов. Интерпретация результатов проводилась с помощью сопоставления полученных спектров со справочной литературой и электронной базы данных Spectral Database for Organic Compounds (SDBS).

На спектрах, представленных Рисунках 17-18, в диапазоне от 3750 до 600 см^{-1} идентифицируются похожие полосы поглощения для всех объектов с отличием лишь в интенсивности поглощения. На основе данного результата можно сделать вывод об идентичности качественного состава компонентов и сбора.

Интенсивная полоса поглощения, представленная в диапазоне от 3750 до 3000 см^{-1} , с наибольшей интенсивностью у алтея корней и душицы обыкновенной травы, характерная для гидроксильных групп фенольных соединений. Также в этом диапазоне обычно идентифицируются межмолекулярные водородные связи полимеров, а также NH-группы пептидов.

На спектрах мать-и-мачехи обыкновенной листьев и душицы обыкновенной травы идентифицируются интенсивные полосы поглощения в диапазоне от 3000 до 2670 см^{-1} . На ИК-спектре корней алтея данные полосы поглощения также представлены, но с меньшей интенсивностью. Обнаруженные полосы поглощения могут соответствовать C-H-группам всех классов органических соединений.

Функциональной группе $\text{RC}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{CR}'$ алкинов, предположительно, соответствуют слабые полосы поглощения в диапазоне от 2600 до 1700 см^{-1} , которые присутствуют на спектрах всех анализируемых образцов.

Для ИК-спектра мать-и-мачехи обыкновенной листьев определена узкая полоса поглощения при длине волны 1700 см^{-1} , интенсивной которой больше, чем у всех остальных объектов. Данная полоса поглощения, ориентировочно, характеризует наличие карбонильной группы в жирных кислотах.

Интенсивная полоса поглощения в области около 1650 см^{-1} на ИК-спектре травы душицы обыкновенной (больше, чем на остальных спектрах), предположительно, относится к карбонильной группе пептидов.

Для корней алтея характерна интенсивная полоса поглощения при длине волны 1170 см^{-1} , которую можно с большей вероятностью отнести к сложноэфирной группе липидов. На том же спектре выделяется полоса поглощения, отражающая колебания гидроксильных групп полисахаридов при длине волны 1030 см^{-1} .

В области 620 см^{-1} на спектре мать-и-мачехи обыкновенной листьев отмечается узкая полоса поглощения слабой интенсивности, предположительно, относящаяся к $\text{O}=\text{C}-\text{N}$ группе пептидов.

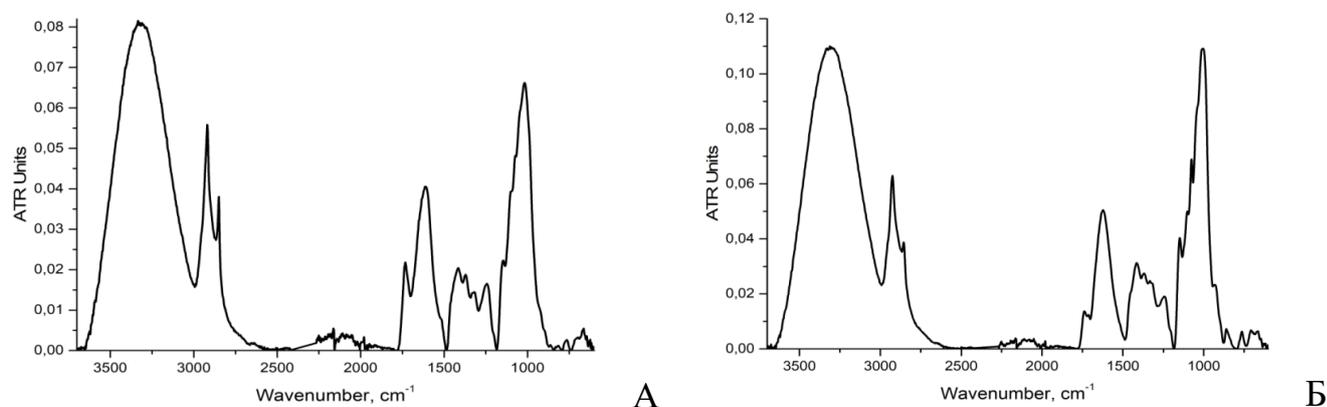


Рисунок 17 – Инфракрасные спектры грудного сбора №1 (А) и корней алтея (Б)

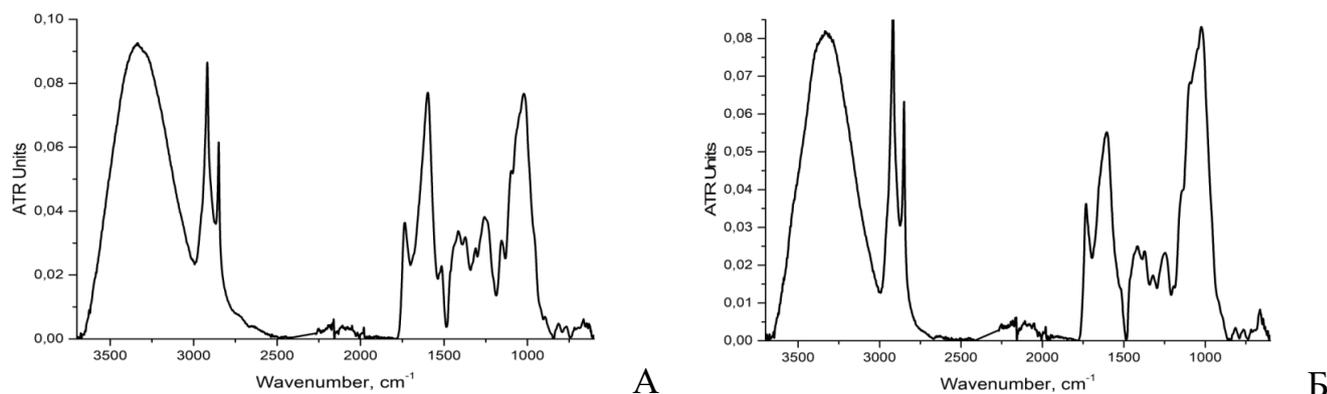


Рисунок 18 – Инфракрасные спектры травы душицы обыкновенной (А) и листьев мать-и-мачехи обыкновенной (Б)

Результат интерпретации полученных спектров даёт возможность сделать предположение о наличии и относительном содержании тех или иных групп БАС в изучаемых образцах. Трава душицы обыкновенной содержит большое количество фенольных соединений и пептидов. В корнях алтея отмечено высокое содержание полисахаридов и липидов.

4.3. Определение суммы полисахаридов методом гравиметрии

Количественное определение полисахаридов в грудном сборе №1 проводили в соответствии с ФС «Подорожника большого листа» [46].

Результаты определения суммы полисахаридов гравиметрическим методом в ГС №1, его компонентах и настоях на их основе представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – Содержание суммы полисахаридов в грудном сборе №1, его компонентах и настоях на их основе, определённое гравиметрическим методом

Наименование лекарственного растительного сырья	Содержание, %					
	1	2	3	4	5	Среднее
<i>Измельчённое ЛРС, выпускаемое в пачках</i>						
Алтея корни	23,56	24,41	23,82	24,21	24,63	24,13±1,80
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	14,93	16,35	15,62	15,47	15,84	15,64±3,32
Душицы обыкновенной трава	8,75	8,58	8,15	9,02	8,76	8,65±3,72
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	17,28	17,64	16,95	17,93	18,03	17,57±2,57
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	18,07	18,53	19,14	17,97	18,18	18,38±2,59
<i>ЛРС-порошок, выпускаемое в фильтр-пакетах</i>						
Алтея корни	22,79	24,18	23,36	23,95	24,13	23,68±2,52
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	14,35	16,08	15,04	15,02	15,21	15,14±4,09
Душицы обыкновенной трава	8,74	8,18	7,95	8,62	8,09	8,31±4,15
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	17,35	17,13	16,23	17,34	17,79	17,17±3,36
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	17,67	17,95	18,74	17,15	17,56	17,81±3,32
<i>Настой измельчённого ЛРС, изготовленный в соответствии с ИМП ЛП</i>						
Алтея корни	2,36	2,44	2,38	2,42	2,46	2,41±1,72
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,49	1,64	1,56	1,55	1,58	1,56±3,46
Душицы обыкновенной трава	0,88	0,86	0,82	0,91	0,88	0,85±3,90
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	1,74	1,76	1,70	1,79	1,80	1,76±2,29
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	1,71	1,70	1,75	1,80	1,75	1,74±2,27
<i>Настой измельчённого ЛРС, изготовленный в соответствии с ОФС «Настой и отвары»</i>						
Алтея корни	14,16	14,64	14,28	14,52	14,76	14,47±1,72
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	8,94	9,84	9,36	9,29	9,48	9,38±3,47
Душицы обыкновенной трава	5,28	5,16	4,92	5,46	5,28	5,22±3,81
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	10,44	10,56	10,20	10,74	10,80	10,55±2,29
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	10,26	10,20	10,50	10,80	10,50	10,45±1,48

Продолжение Таблицы 7

Наименование лекарственного растительного сырья	Содержание, %					
	1	2	3	4	5	Среднее
<i>Настой ЛРС-порошка, выпускаемого в фильтр-пакетах, изготовленный в соответствии с ИМП ЛП</i>						
Аллея корни	2,24	2,37	2,28	2,35	2,37	2,32±2,54
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,37	1,47	1,43	1,45	1,46	1,44±2,77
Душицы обыкновенной трава	0,80	0,76	0,73	0,75	0,74	0,76±3,57
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	1,67	1,63	1,54	1,68	1,65	1,63±3,42
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	1,69	1,76	1,77	1,61	1,76	1,72±3,98
<i>Настой ЛРС-порошка, выпускаемого в фильтр-пакетах, изготовленный в соответствии с ОФС «Настои и отвары»</i>						
Аллея корни	13,44	14,22	13,68	14,10	14,22	13,93±2,54
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	8,22	8,82	8,58	8,70	8,76	8,62±2,77
Душицы обыкновенной трава	4,80	4,56	4,38	4,50	4,44	4,54±3,57
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	10,02	9,78	9,24	10,08	9,90	9,80±3,42
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	10,14	10,56	10,62	9,66	10,56	10,31±3,98

Примечание: ГС №1 КГЛС – сбор производства АО «Красногорсклексредства», ГС №1 Здоровье – сбор, производства ООО «Фирма «Здоровье»

В ходе исследования было выявлено наличие наибольшего количества полисахаридов в корнях алтея (от 22,79 % до 24,63 % для сырья; от 2,24 % до 14,76 % для настоев из измельчённого сырья и порошка, приготовленных в соответствии с требованиями ИМП ЛП и ОФС «Настои и отвары»), наименьшего – в траве душицы обыкновенной (от 7,95 % до 9,02 % в сырье; от 0,73 % до 5,46 % в настоях). В мать-и-мачехи обыкновенной траве определено от 14,35 % до 16,35 % суммы полисахаридов. В настоях мать-и-мачехи обыкновенной листьев, приготовленных из измельчённого сырья и порошка, обнаружено от 1,37 % до 9,84 % суммы полисахаридов, соответственно.

В ГС №1 измельчённом и сборе-порошке обоих производителей обнаружено от 17,13 % до 19,14 % полисахаридов; в настоях, приготовленных из измельчённого сбора и порошка в соответствии с требованиями ИМП ЛП и ОФС «Настои и отвары» – от 1,54 % до 10,80 %, соответственно.

Полученные данные количественного определения суммы полисахаридов в ГС №1, его компонентах и настоях на его основе, приготовленных в соответствии

с инструкцией по медицинскому применению лекарственного препарата и ОФС «Настои и отвары», позволяют сделать вывод о внесении наибольшего вклада алтея корней в содержание исследуемой группы БАС в ГС №1.

4.4. Сумма полисахаридов и свободных сахаров в пересчёте на глюкозу

Количественное определение проводили в соответствии с ФС «Мать-и-мачехи обыкновенной листья» [45]. Результаты определения суммы полисахаридов и свободных сахаров спектрофотометрическим методом в ГС №1, его компонентах и настоях на их основе представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Содержание суммы полисахаридов и свободных сахаров в грудном сборе №1, его компонентах и настоях на их основе, определённое методом спектрофотометрии

Наименование ЛРС	Содержание, %					
	1	2	3	4	5	Среднее
<i>Измельчённое ЛРС, выпускаемое в пачках</i>						
Алтея корни	26,80	26,60	27,01	28,25	27,20	27,17±2,37
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	22,25	22,15	21,13	21,44	20,97	21,59±2,71
Душицы обыкновенной трава	11,44	10,90	10,67	10,41	11,52	10,99±4,39
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	22,21	21,68	21,74	21,24	21,89	21,75±1,62
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	21,38	19,89	20,79	20,34	20,62	20,60±2,68
<i>ЛРС-порошок, выпускаемое в фильтр-пакетах</i>						
Алтея корни	26,32	26,36	26,78	27,92	26,79	26,83±2,41
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	21,98	21,95	20,97	21,13	20,24	21,25±3,44
Душицы обыкновенной трава	11,07	10,36	10,21	10,14	11,23	10,60±4,81
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	21,97	21,46	21,32	21,37	21,41	21,51±1,23
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	21,06	19,53	20,44	20,02	20,29	20,27±2,77
<i>Настой измельчённого ЛРС, выпускаемого в пачках, изготовленный в соответствии с ИМП ЛП</i>						
Алтея корни	2,68	2,66	2,70	2,83	2,72	2,72±2,45
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	2,23	2,22	2,11	2,14	2,10	2,16±2,84
Душицы обыкновенной трава	1,14	1,09	1,07	1,04	1,15	1,10±4,24
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	2,22	2,19	2,17	2,17	2,19	2,19±0,94
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	2,14	1,99	2,08	2,03	2,06	2,06±2,72
<i>Настой измельчённого ЛРС, выпускаемого в пачках, изготовленный в соответствии с ОФС «Настои и отвары»</i>						
Алтея корни	16,08	15,96	16,20	16,98	16,32	16,31±2,45

Продолжение Таблицы 8

Наименование ЛРС	Содержание, %					
	1	2	3	4	5	Среднее
Душицы обыкновенной трава	6,66	6,24	6,12	6,06	6,72	6,36±4,86
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	13,20	12,90	13,56	12,84	12,52	13,00±3,03
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	13,78	13,84	14,08	13,74	13,08	13,70±2,72
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	13,38	13,32	12,66	12,84	12,60	12,96±2,84
Душицы обыкновенной трава	6,84	6,54	6,42	6,24	6,90	6,59±4,24
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	13,32	13,14	13,02	13,52	13,84	13,39±2,53
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	12,84	11,94	12,48	12,18	12,36	12,36±2,72
<i>Настой ЛРС-порошка, выпускаемого в фильтр-пакетах, изготовленный в соответствии с ИМП ЛП</i>						
Алтея корни	2,63	2,64	2,68	2,79	2,68	2,69±2,37
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	2,20	2,20	2,10	2,11	2,02	2,13±3,58
Душицы обыкновенной трава	1,11	1,04	1,02	1,01	1,12	1,06±4,86
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	2,20	2,15	2,13	2,14	2,14	2,15±1,29
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	2,11	1,95	2,04	2,00	2,03	2,03±2,89
<i>Настой ЛРС-порошка, выпускаемого в фильтр-пакетах, изготовленный в соответствии с ОФС «Настой и отвары»</i>						
Алтея корни	15,78	15,84	16,08	16,74	16,08	16,10±2,37
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	13,20	13,34	12,60	12,66	12,12	12,78±3,86

Примечание: ГС №1 КГЛС – сбор производства АО «Красногорсклексредства», ГС №1 Здоровье – сбор, производства ООО «Фирма «Здоровье»

В ходе исследования было выявлено наличие большего количества полисахаридов и свободных сахаров в корнях алтея (от 26,32 % до 28,25 % в сырье; от 2,63 % до 16,98 % в настоях), наименьшего – в траве душицы обыкновенной (от 10,14 % до 11,52 % в ЛРС; от 1,01 % до 11,23 % в настоях). Для мать-и-мачехи обыкновенной листьев определено от 20,24 % до 22,25 %; от 2,02 % до 13,38 % в настоях.

В ГС №1 измельчённом и сборе-порошке обоих производителей обнаружено от 19,53 % до 22,21 % полисахаридов и свободных сахаров в пересчёте на глюкозу; в настоях – от 1,95 % до 14,08 %, соответственно.

Полученные данные количественного определения суммы полисахаридов и свободных сахаров в ГС №1, его компонентах и настоях на его основе, приготовленных в соответствии с инструкцией по медицинскому применению

лекарственного препарата и ОФС «Настои и отвары», позволяют сделать вывод о внесении наибольшего вклада алтея корней в содержание исследуемой группы БАС в ГС №1.

4.5. Изучение флавоноидов и гидроксикоричных кислот

Анализ общедоступной научной литературы показал наличие гликозидов лютеолина и апигенина в траве душицы обыкновенной [79], гидроксикоричных кислот [106]; в корнях алтея лекарственного доказано наличие изоскутелларина [73], а гликозидов кверцетина и кемпферола – в листьях мать-и-мачехи [52]. Однако профиль флавоноидов грудного сбора №1 не был описан. В связи с этим была поставлена задача провести идентификацию и установить профиль флавоноидов грудного сбора №1.

В ходе анализа спирто-водного извлечения грудного сбора №1 было получено несколько хроматограмм. В режиме регистрации позитивных ионов молекулярный ион $m/z = 271$ наблюдается у одного пика с временем удерживания 10,49 мин (Рисунок 19). Можно предположить, что это соединение является производным апигенина, предположительно, апигенин 7-О-β-глюкуронидом (Рисунок 20).

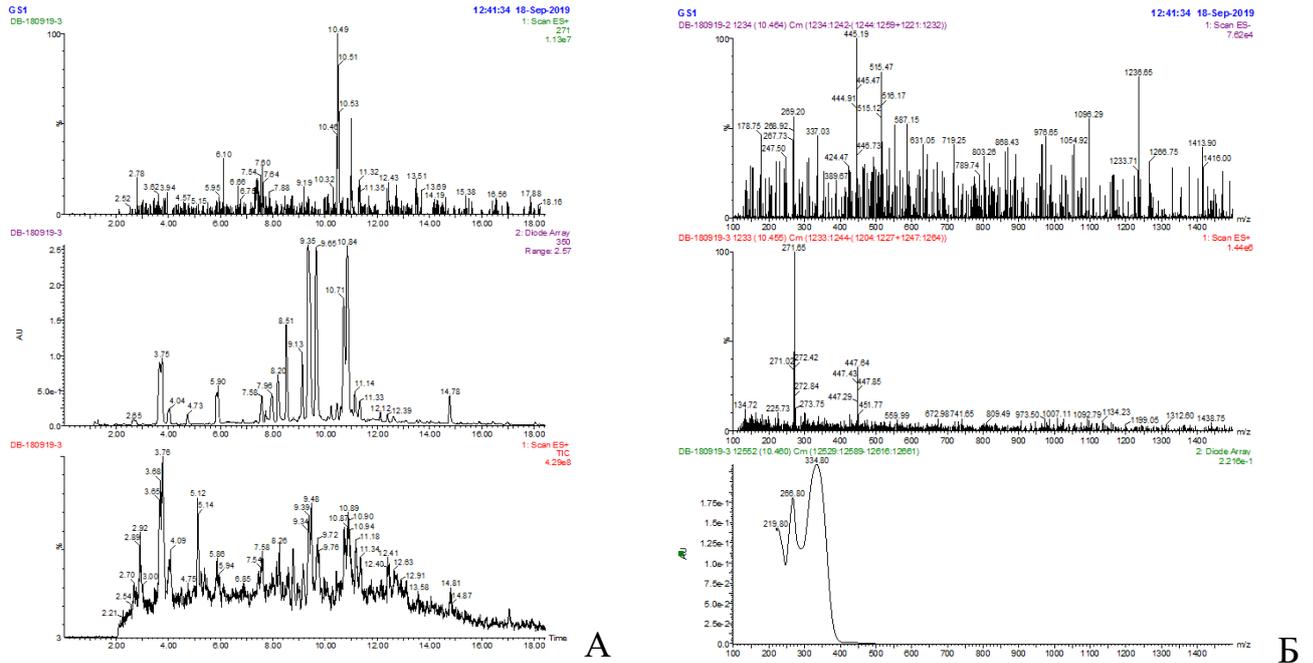


Рисунок 19 – Масс-спектр (А) и хроматограмма (Б) производного апигенина (флавона) в режиме регистрации положительных ионов

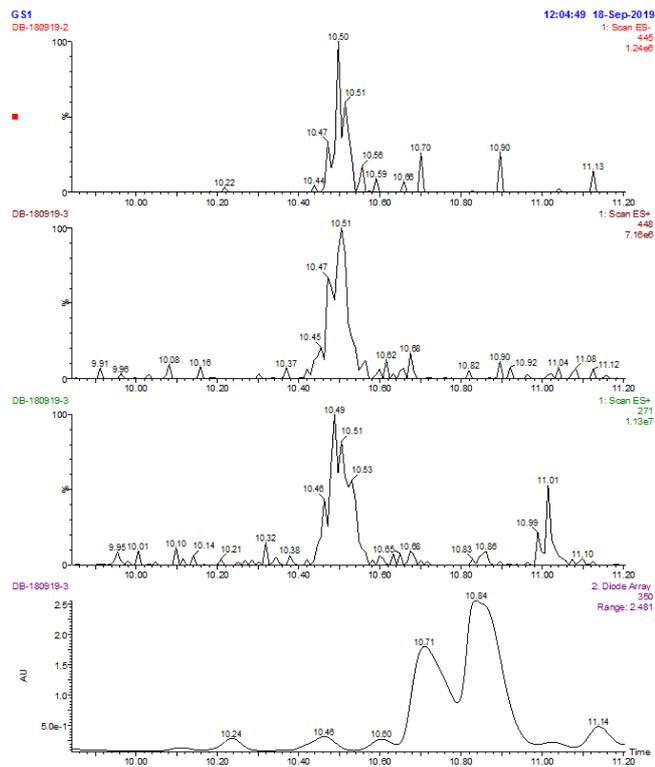


Рисунок 20 – Хроматограмма апигенин-7-О-β-глюкуронида (время удерживания 10,49 мин) в режиме регистрации положительных и отрицательных ионов, $m/z = 446$

В режиме регистрации положительных ионов $[M+H]^+$ $m/z = 287$ наблюдается у 9 пиков с существенной интенсивностью и временами удерживания 5,87, 5,94, 7,99, 8,54, 9,17, 9,67, 10,27, 10,87 и 11,18 мин. Можно предположить, что эти компоненты являются производными лютеолина, кемпферола, изоскутелларина (Рисунок 21).

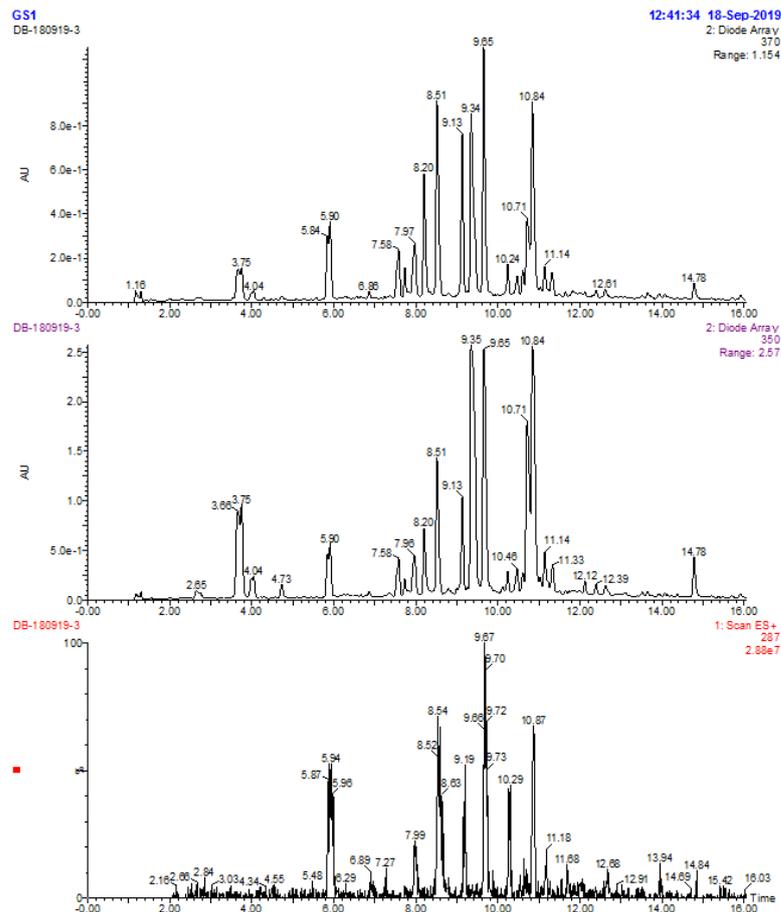


Рисунок 21 – Хроматограмма производных лютеолина, кемпферола, изоскутелларина (флавоноиды) в режиме регистрации положительных ионов

Молекулярный ион $[M+H]^+$ $m/z = 638$ наблюдается у пиков с временами удерживания 5,87 и 5,94 мин (Рисунок 22). Для этих пиков можно предположить структуру производных лютеолина.

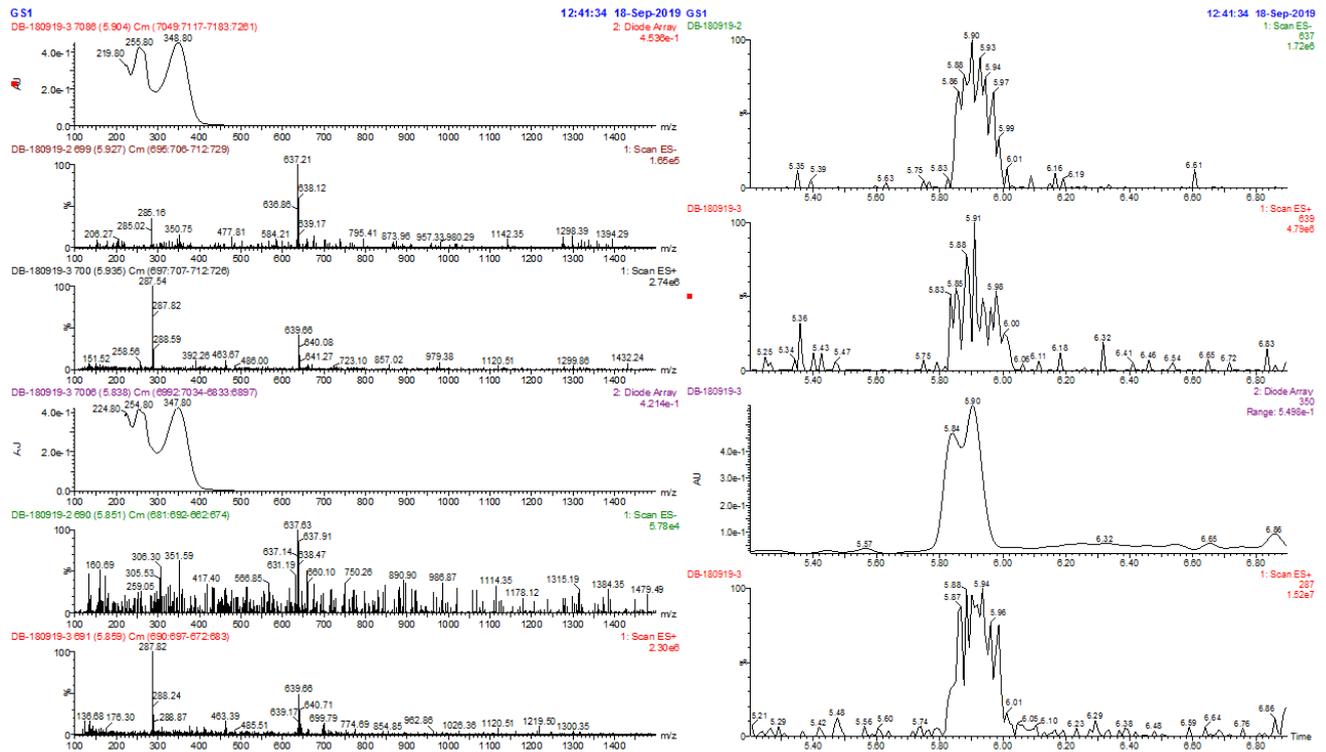


Рисунок 22 – Хроматограммы и масс-спектры флавоноидов, производных лютеолина, в режиме регистрации положительных ионов

Для пика с временем удерживания 7,99 мин и молекулярным ионом $[M+H]^+$ $m/z = 800$ можно предположить структуру лютеолин-7,4'-диглюкуронид-3'-гликозида (Рисунок 23).

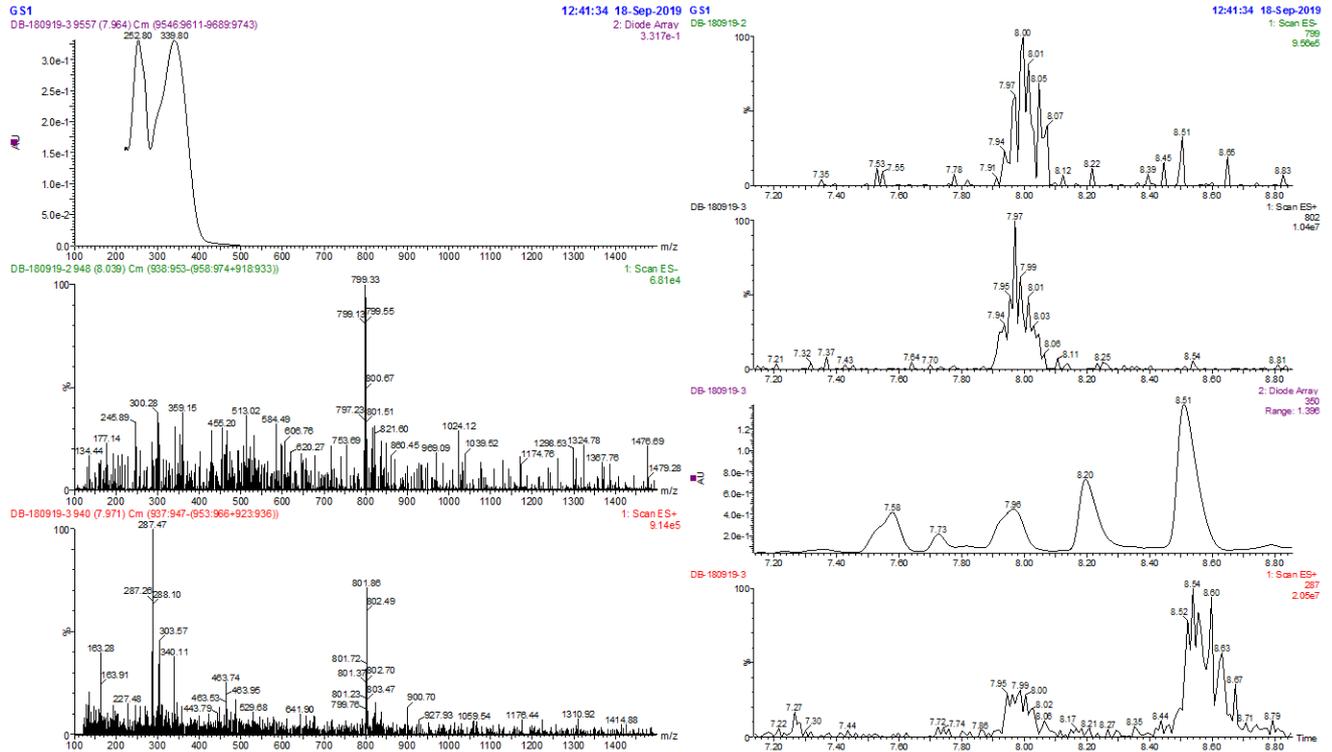


Рисунок 23 – Хроматограмма и масс-спектры лютеолин-7,4'-диглюкуронид-3'-гликозида в режиме регистрации позитивных ионов

Для пика с временем удерживания 8,54 мин и молекулярным ионом $[M+H]$ $m/z = 462$ можно предположить структуру лютеолин-7-О-глюкуронида (Рисунок 24).

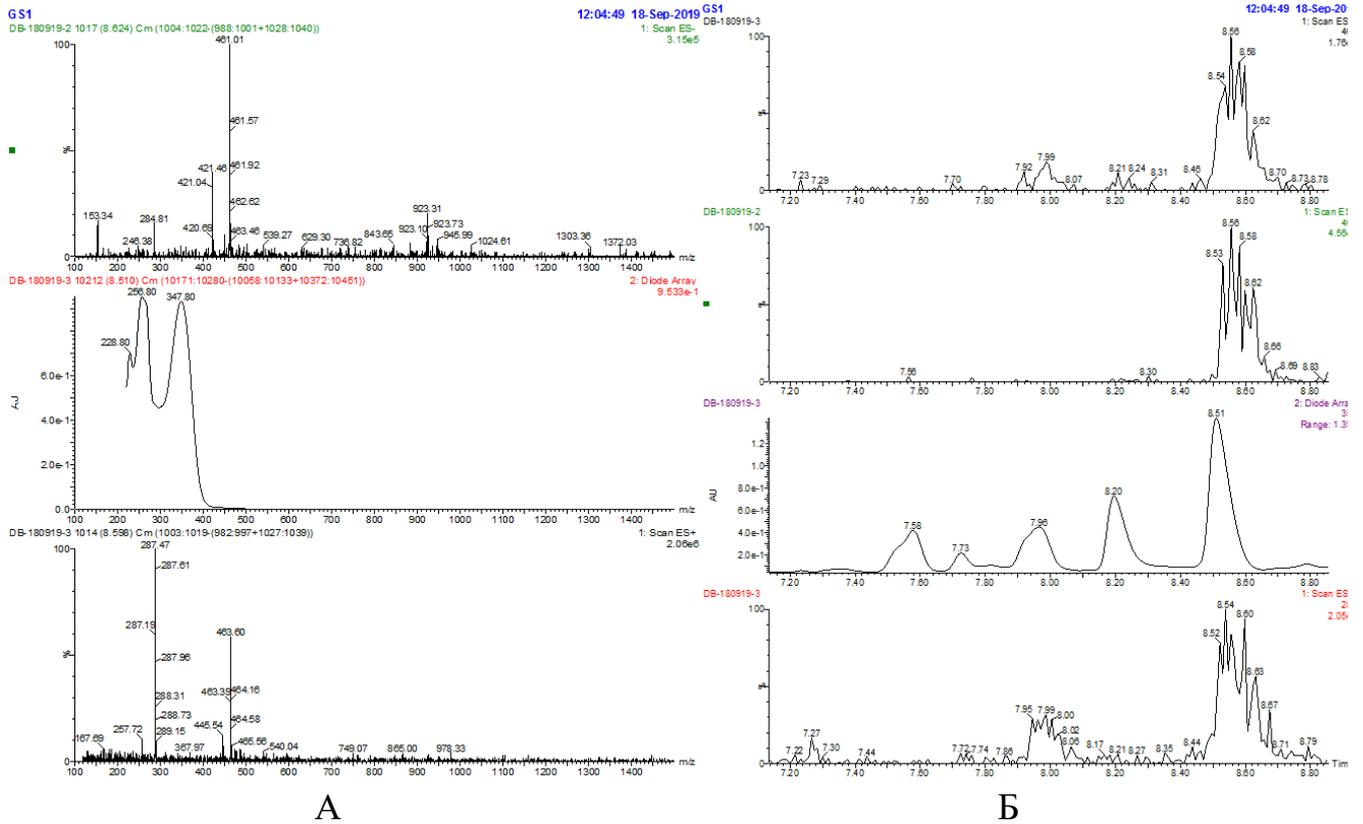


Рисунок 24 – Масс-спектры (А) и хроматограммы (Б) лютеолин-7-О-глюкуронида в режиме регистрации позитивных ионов

Пик с временем удерживания 9,16 мин и молекулярным ионом $m/z = 814$ можно предположить структуру лютеолин-7-О-[β -D-глюкуронозил-(1 \rightarrow 2)- β -D-глюкуронид]-4'-О- β -D-глюкуронида (Рисунок 25).

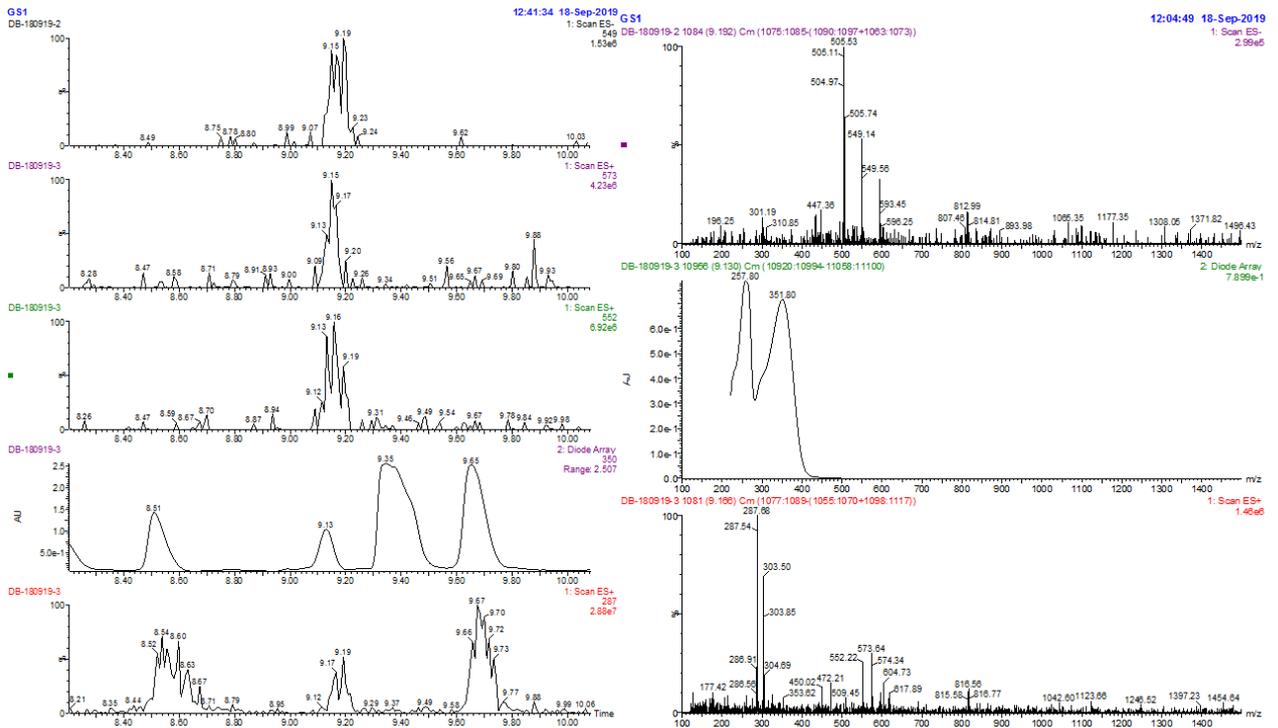


Рисунок 25 – Хроматограмма и масс-спектры лутеолин 7-О-[β-D-глюкуронозил-(1→2)-β-D-глюкуронид]-4'-О-β-D-глюкуронида в режиме регистрации позитивных ионов

На хроматограмме и масс-спектре, изображённых на рисунке 4.6.8, идентифицируются, предположительно, производные кверцетина (времена удерживания 7,75; 8,01; 8,22; 9,16 мин, молекулярный ион $m/z = 303$). При этом соединение с временем удерживания 7,75 мин и молекулярным ионом $m/z = 610$ является, скорее всего, рутином (Рисунок 26).

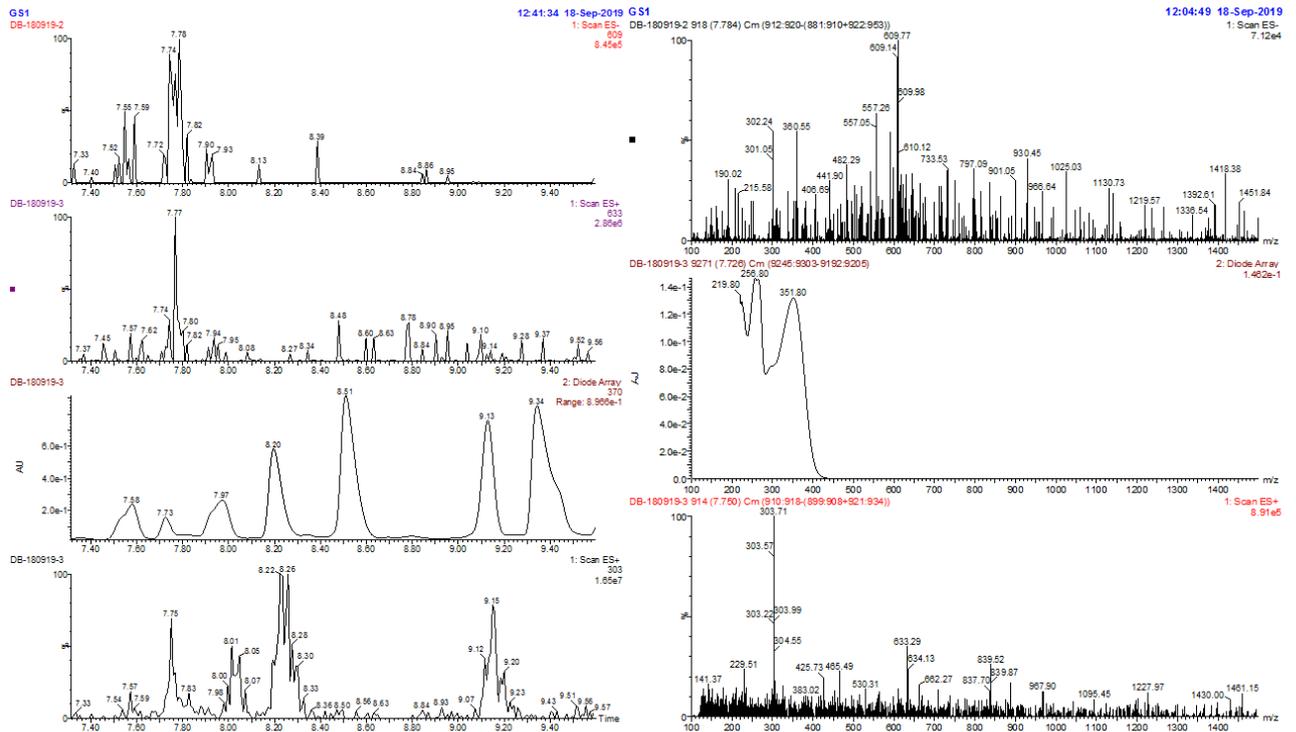


Рисунок 26 – Хроматограмма и масс-спектры рутина, производного кверцетина, в режиме регистрации позитивных ионов

На хроматограмме (Рисунок 27) можно увидеть шесть интенсивных пиков с временами удерживания 3,68, 3,78, 9,29, 9,46, 10,76 и 14,81 мин. Для них наблюдается молекулярный ион $[M+H-H_2O]$ $m/z = 163$ и $[M-H]$ $m/z = 179$, предположительное соединение – кофейная кислота.

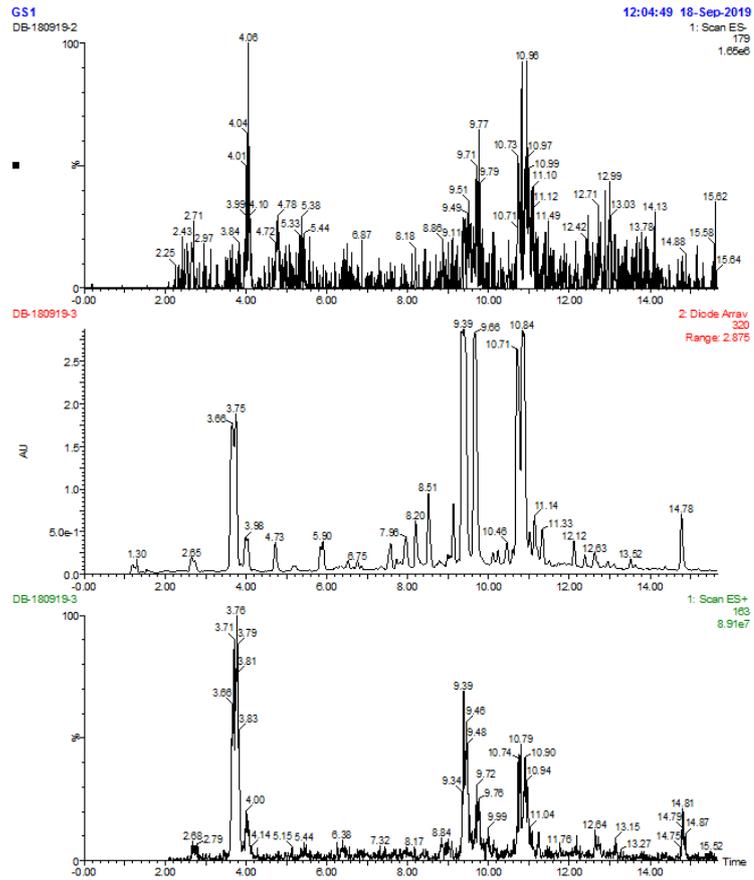


Рисунок 27 – Хроматограмма кофейной кислоты в режиме регистрации позитивных ионов

На хроматограмме и масс-спектре (Рисунок 28) обнаруживаются хлорогеновая и изохлорогеновая кислоты (время удерживания 3,68; 3,78 мин, молекулярный ион $m/z = 354$).

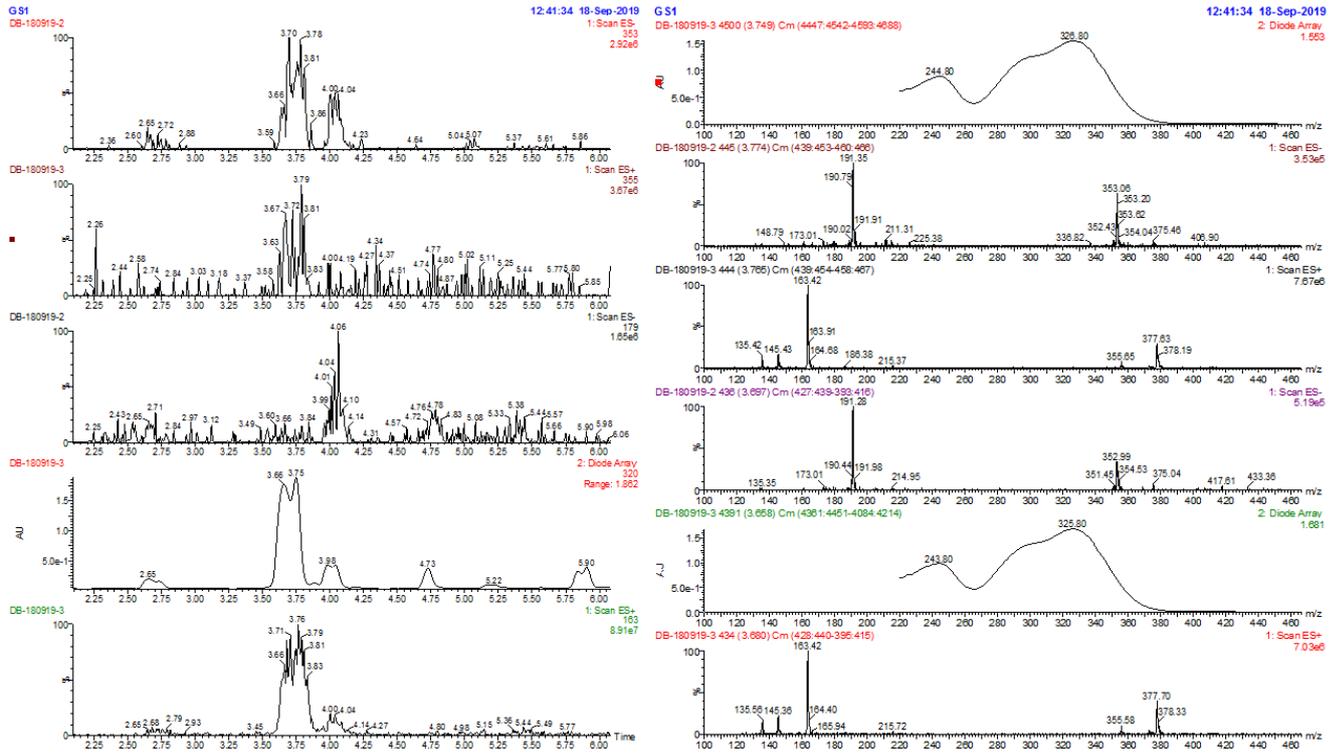


Рисунок 28 – Хроматограмма и масс-спектры хлорогеновой и изохлорогеновой кислот в режиме регистрации позитивных ионов

В режиме регистрации позитивных ионов для пика с временем удерживания 9,38 мин наблюдается молекулярный ион $m/z = 516$. Для него можно предположить одну из следующих структур: изохлорогеновая кислота С, 4,5-дикаффоилхиновая кислота (Рисунок 29).

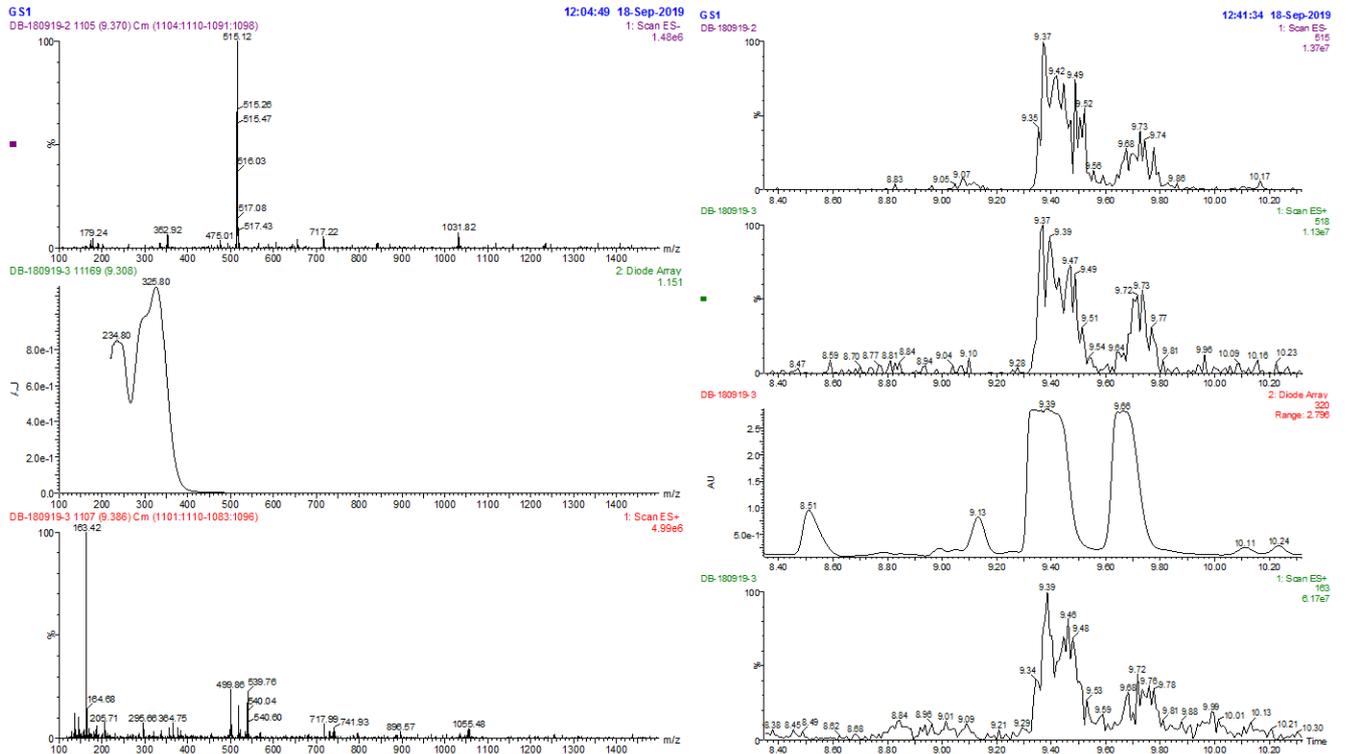


Рисунок 29 – Хроматограмма и масс-спектры изохлорогеновой кислоты С, 4,5-дикаффоилхиновой кислоты в режиме регистрации позитивных ионов

Для пика с временем удерживания 10,76 мин наблюдается молекулярный ион $m/z = 516$ (Рисунок 30). Можно предположить, что пик соответствует одному из следующих соединений: изохлорогеновая кислота А, 3,5-дикаффоилхиновая кислота. Необходимо обратить внимание, что эти соединения являются изомерами, последовательность их выхода может быть обратной.

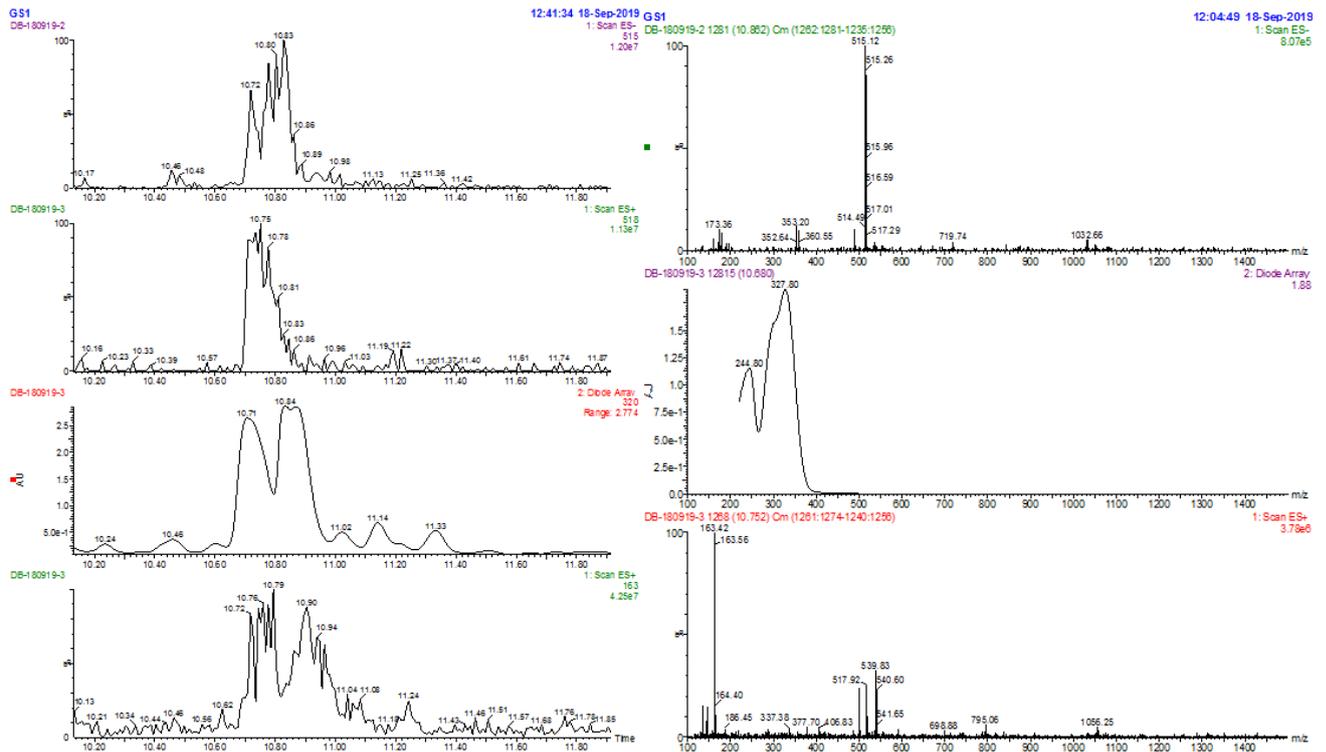


Рисунок 30 – Хроматограмма и масс-спектры изохлорогеновой кислоты А, 3,5-дикаффоилхиновой кислоты в режиме регистрации позитивных ионов

Пик с временем удерживания 14,81 мин соответствует молекулярному иону $[M + H] m/z = 678$, $[M - H] m/z = 677$ (Рисунок 31). Для этого пика можно предположить структуру 3,4,5-трикаффоилхиновой кислоты.

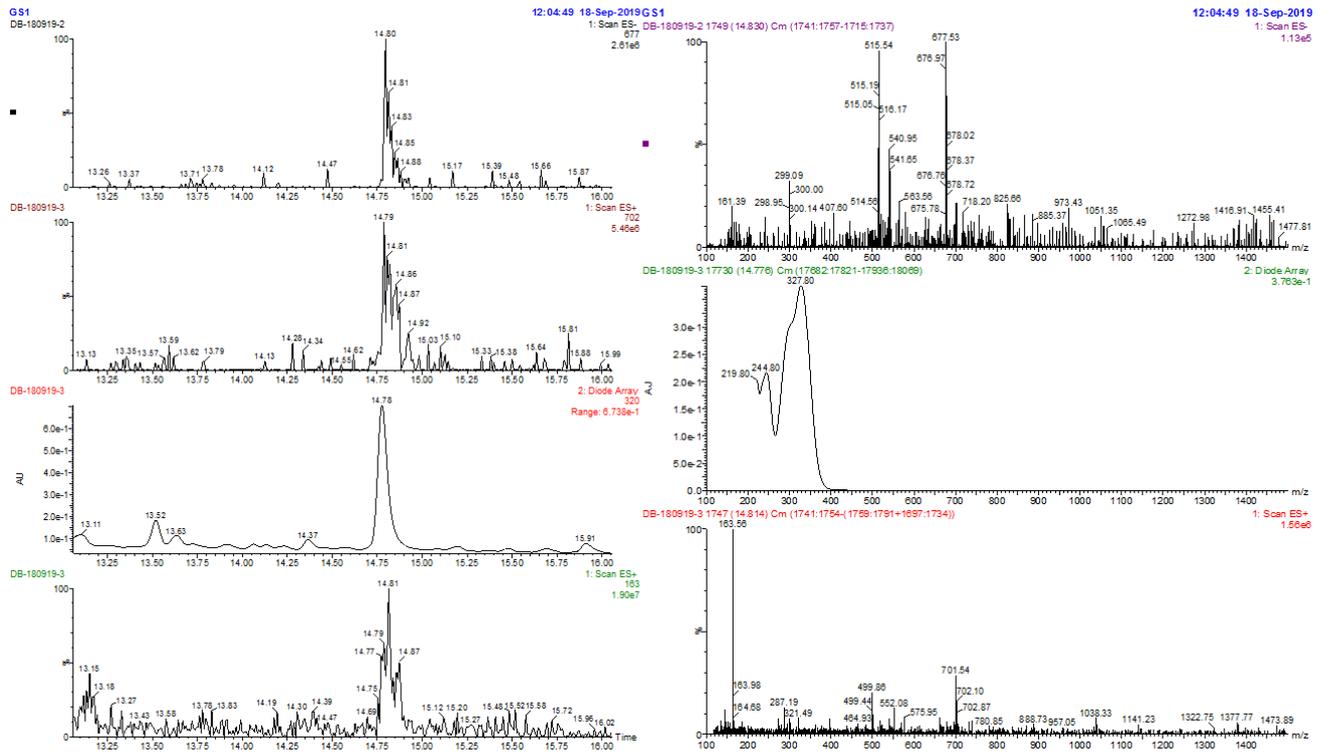


Рисунок 31 – Хроматограмма и масс-спектр 3,4,5-трикафеоилхиновой кислоты в режиме регистрации позитивных ионов

Пик с временем удерживания 9,67 мин и массой 516. Подходящую структуру найти не удастся (Рисунок 32).

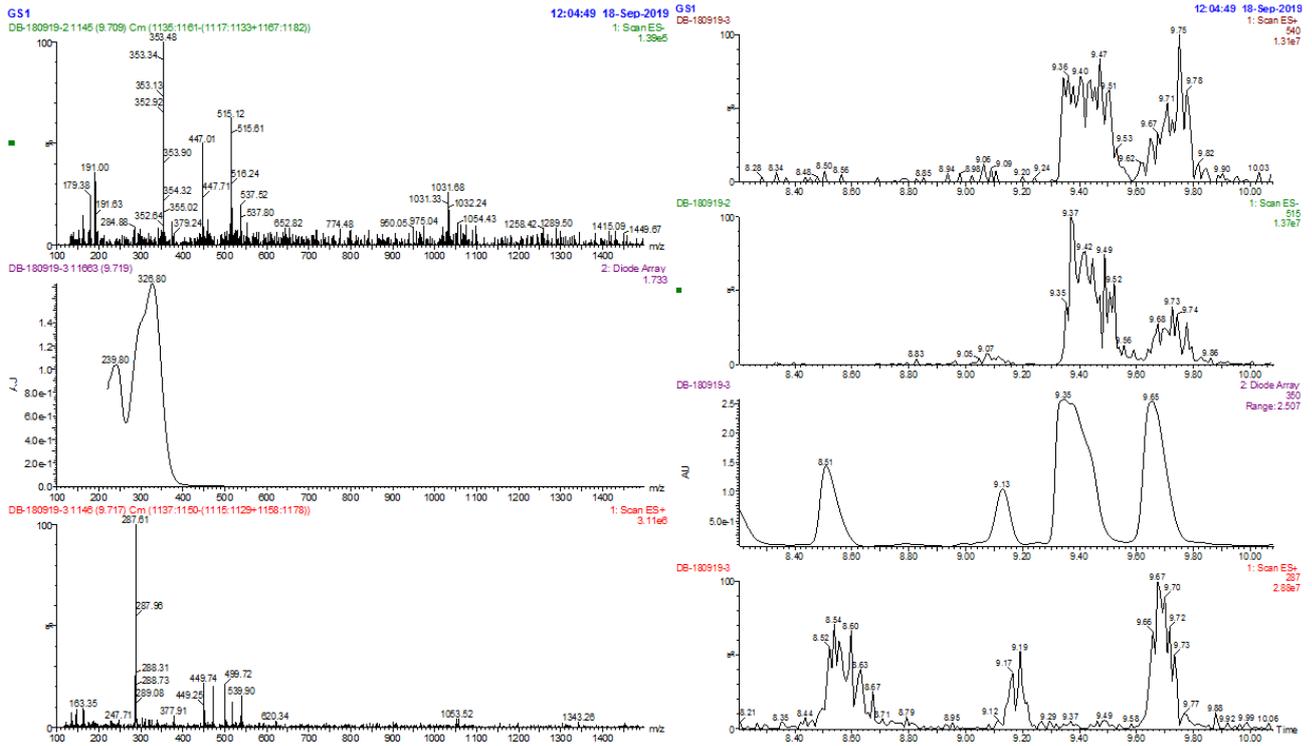


Рисунок 32 – Хроматограмма и спектр неизвестного вещества с временем удерживания 9,67 мин и $m/z = 516$

В результате проведения УЭЖХ-УФ-МС-МС анализа нами были идентифицированы следующие флавоноиды: производные апигенина (апигенин 7-О-β-глюкуронид), лютеолина (лютеолин 7,4'-диглюкуронид-3'-гликозид, лютеолин 7-О-глюкуронид, лютеолин 7-О-[β-D-глюкуронозил-(1→2)-β-D-глюкуронид]-4'-О-β-D-глюкуронид) и кверцетина (рутин).

4.6. Определение флавоноидов методом тонкослойной хроматографии

Для определения профиля флавоноидов и гидроксикоричных кислот ГС №1, настоя на его основе и компонентов сбора использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). В анализе использовали ТСХ-пластинку со слоем силикагеля F₂₅₄. В качестве подвижной фазы применялась смесь растворителей толуол–этилацетат–муравьиная кислота–вода в соотношении 10:20:5:2.

Испытуемые растворы (водно-спиртовые извлечения) из ГС №1 и его

компонентов готовили, отбирая пробу измельчённого до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 2 мм, растительного сырья в количестве 2,0 г и экстрагируя на кипящей водяной бане с 10 мл спирта этилового 70 % в течение 10 мин. Полученные извлечения фильтровали через беззольный бумажный фильтр. Настой сбора готовили согласно инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата (ИМП ЛП) (АО «Красногорсклексредства», Россия).

В качестве стандартных образцов (СО) использовали растворы лютеолина, лютеолин 7-О-глюкозида, рутина, кверцетина, гиперозида, кофейной и хлорогеновой кислот в спирте 96 % с концентрацией 0,5 мг/мл.

В качестве реактивов для детектирования применяли 1 % спиртовой раствор дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира (реактив для детектирования 1) и 5 % спиртовой раствор макрогола (реактив для детектирования 2).

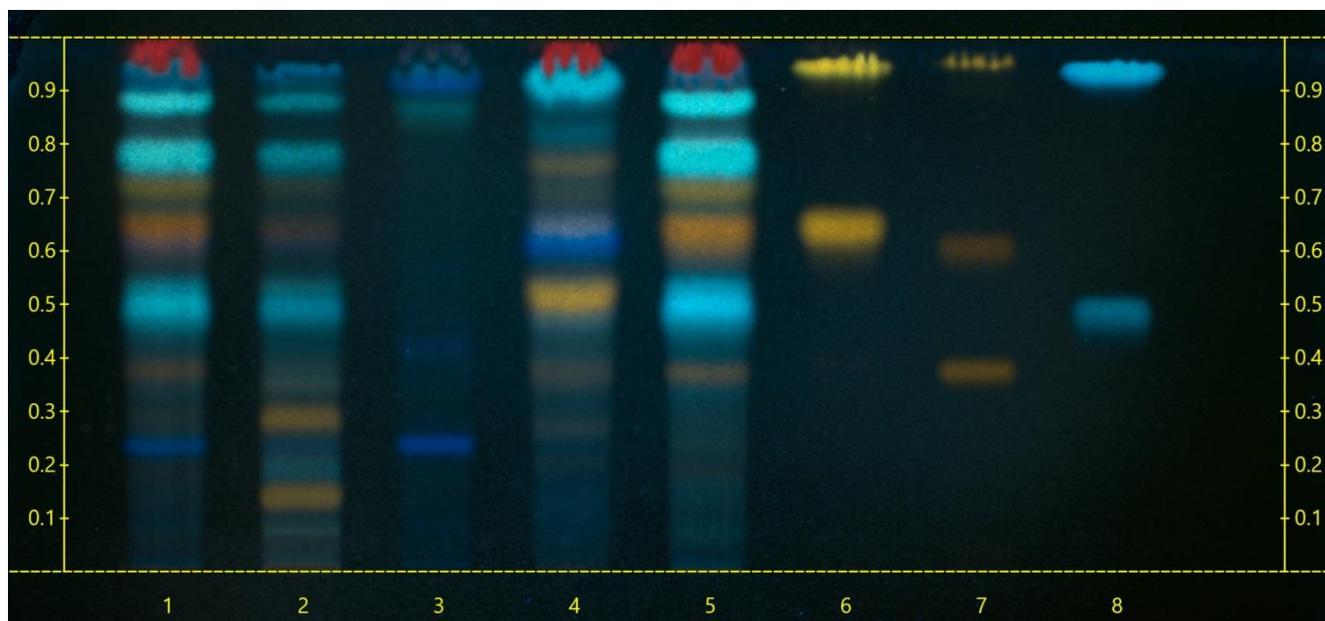
На линию старта пластинки наносили по 20 мкл каждого из испытуемых растворов и по 5 мкл растворов стандартных образцов (Таблица 9).

Таблица 9 – Нанесение растворов образцов на пластинку

Раствор	Состав раствора	Нанесение, мкл
Испытуемый раствор №1	Спирто-водное извлечение из ГС №1	20
Испытуемый раствор №2	Настой ГС №1	20
Испытуемый раствор №3	Спирто-водное извлечение из корней алтея	20
Испытуемый раствор №4	Спирто-водное извлечение из травы душицы обыкновенной	20
Испытуемый раствор №5	Спирто-водное извлечение из листьев мать-и-мачехи обыкновенной	20
Смесь стандартов №1	Раствор стандартного образца лютеолин-7О-глюкозида	5
Смесь стандартов №2	Растворы стандартных образцов рутина, гиперозида, кверцетина	5
Смесь стандартов №3	Растворы стандартных образцов кофейной и хлорогеновой кислот	5

После прохождения фронта подвижной фазы 90 % длины пластинки, её вынимали и высушивали на воздухе до удаления следов растворителей, затем пластинку подвергали нагреванию в течение 3 мин на нагревательной плитке при

температуре 105 °С и, ещё тёплую, последовательно опрыскивали реактивом для детектирования 1 и реактивом для детектирования 2, после чего просматривали в УФ-свете при длине волны 365 нм (Рисунок 33).



Детектирование в УФ-свете при длине волны 365 нм

1 – грудной сбор №1 (испытуемый раствор); 2 – настой грудного сбора №1; 3 – алтея корни; 4 – душицы трава; 5 – мать-и-мачехи обыкновенной листья; 6 – смесь стандартов №1; 7 – смесь стандартов №2; 8 – смесь стандартов №3

Рисунок 33 – Хроматограмма спирто-водных извлечений грудного сбора №1 и его компонентов

На хроматограмме спирто-водного извлечения из грудного сбора №1 (испытуемого раствора) и его настоя наблюдаются идентичные по уровню зоны адсорбции голубого, оранжевого и жёлто-оранжевого цвета в средней и верхней третях пластинки, отличающиеся только интенсивностью флуоресценции, что говорит о переходе большинства флавоноидов из грудного сбора №1 в препарат на его основе.

На хроматограмме испытуемого раствора в верхней и нижней трети пластинки обнаружены зоны адсорбции синего цвета на уровне зон адсорбции

извлечения из корней алтея, что доказывает наличие данного компонента в составе сбора.

На хроматограмме испытуемого раствора обнаружены зоны голубого и жёлто-оранжевого цвета в средней и верхней трети пластинки на уровне зон адсорбции на хроматограмме извлечения из мать-и-мачехи обыкновенной листьев, что доказывает присутствие указанного компонента в составе сбора.

На хроматограмме испытуемого раствора обнаружены зоны адсорбции жёлто-оранжевого и голубого цвета в нижней, средней и верхней третях пластинки на уровне зон на хроматограмме извлечения из душицы обыкновенной травы, что доказывает наличие данного компонента в составе сбора.

4.7. Определение суммы флавоноидов методом спектрофотометрии

Количественное определение суммы флавоноидов грудного сбора №1 в пересчёте на лютеолин проводили в соответствии с ГФ РФ XIV издания ФС «Душицы обыкновенной трава» [41]. Для приготовления испытуемого раствора (спирто-водного извлечения) ГС №1 брали навеску 2,0 г. Результаты определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин в ГС №1, его компонентах и настоях на их основе представлены в Таблице 10.

Таблица 10 – Содержание суммы флавоноидов в грудном сборе №1 и его компонентах, определённое спектрофотометрическим методом

Наименование ЛРС	Содержание, %					
	1	2	3	4	5	Среднее
<i>Измельчённое ЛРС, выпускаемое в пачках</i>						
Алтея корни	0,42	0,41	0,42	0,41	0,43	0,42±2,00
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,38	1,37	1,42	1,47	1,34	1,40±3,60
Душицы обыкновенной трава	2,44	2,37	2,35	2,39	2,46	2,40±1,94
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	2,08	1,97	2,03	2,05	1,98	2,02±2,30
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	1,94	1,98	2,01	2,03	1,97	1,99±1,77
<i>ЛРС-порошок, выпускаемое в фильтр-пакетах</i>						
Алтея корни	0,89	0,86	0,96	0,95	0,93	0,92±4,58
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,35	1,28	1,27	1,29	1,31	1,30±2,43

Продолжение Таблицы 10

Наименование ЛРС	Содержание, %					
	1	2	3	4	5	Среднее
Душицы обыкновенной трава	2,94	2,88	2,95	2,92	2,89	2,92±1,05
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	1,97	2,02	1,95	1,98	2,01	1,99±1,45
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	1,99	2,03	2,01	1,97	1,94	1,99±1,76
<i>Настой измельчённого ЛРС, изготовленный в соответствии с ИМП ЛП</i>						
Аллея корни	0,11	0,12	0,11	0,12	0,11	0,11±4,80
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	0,21	0,22	0,21	0,23	0,21	0,22±4,14
Душицы обыкновенной трава	0,28	0,26	0,25	0,27	0,26	0,26±4,32
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	0,64	0,62	0,63	0,68	0,64	0,64±3,55
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	0,51	0,53	0,51	0,54	0,52	0,52±2,50
<i>Настой измельчённого ЛРС, изготовленный в соответствии с ОФС «Настои и отвары»</i>						
Аллея корни	0,69	0,72	0,68	0,75	0,72	0,71±3,90
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,26	1,32	1,26	1,38	1,26	1,29±4,14
Душицы обыкновенной трава	1,68	1,56	1,73	1,62	1,56	1,63±4,59
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	3,84	3,72	3,78	4,08	3,84	3,85±3,55
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	3,06	3,18	3,06	3,24	3,12	3,13±2,50
<i>Настой ЛРС, выпускаемого в фильтр-пакетах, изготовленный в соответствии с ИМП ЛП</i>						
Аллея корни	0,11	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12±3,79
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	0,22	0,21	0,23	0,22	0,21	0,22±3,84
Душицы обыкновенной трава	0,26	0,25	0,25	0,25	0,26	0,25±2,16
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	0,61	0,69	0,65	0,64	0,67	0,65±4,65
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	0,59	0,57	0,53	0,56	0,55	0,56±3,99
<i>Настой ЛРС, выпускаемого в фильтр-пакетах, изготовленный в соответствии с ОФС «Настои и отвары»</i>						
Аллея корни	0,66	0,67	0,65	0,62	0,71	0,66±4,94
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,32	1,26	1,38	1,32	1,26	1,31±3,84
Душицы обыкновенной трава	1,62	1,64	1,78	1,66	1,56	1,65±4,89
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	3,66	4,14	3,90	3,84	4,02	3,91±4,65
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	3,54	3,42	3,18	3,36	3,30	3,36±3,99

Примечание: ГС №1 КГЛС – сбор производства АО «Красногорсклексредства», ГС №1 Здоровье – сбор, производства ООО «Фирма «Здоровье»

В ходе исследования было выявлено наличие большего количества флавоноидов в траве душицы обыкновенной (от 2,35 % до 2,95 % в сырье; от 0,25 % до 1,78 % в настоях), наименьшего – в корнях алтея (от 0,41 % до 0,96 % в сырье; от 0,11 % до 0,75 % в настоях).

В ГС №1 измельчённом и сборе-порошке обоих производителей

обнаружено от 1,94 % до 2,08 % флавоноидов в пересчёте на лютеолин; в настоях, приготовленных из измельчённого сбора и порошка в соответствии с требованиями ИМП ЛП и ОФС «Настои и отвары» – от 0,51 % до 4,14 %.

Полученные данные количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин в ГС №1, его компонентах и настоях на его основе, приготовленных в соответствии с инструкцией по медицинскому применению лекарственного препарата и ОФС «Настои и отвары», позволяют сделать вывод о внесении наибольшего вклада травы душицы обыкновенной в содержание исследуемой группы БАС в ГС №1.

4.8. Определение жирнокислотного состава

По литературным данным, в подземных органах мать-и-мачехи обыкновенной обнаружено 10, в листьях 13, в цветках 12 жирных кислот (ЖК), преобладающими из которых являются линолевая (26,65% в листьях) и линоленовая (30,45% в листьях) [12]. Трава душицы обыкновенной содержит такие ЖК, как пальмитиновая (60,18%), линолевая (14,25%), олеиновая кислоты (5,65%), а в подземных органах того же растения присутствуют пальмитиновая (58,23%), линолевая (12,11%), линоленовая кислоты (3,66%) [62]. Основными ЖК корней алтея являются пальмитиновая кислота (16,8%), линолевая кислота (омега-6) (28,0%) и нафталин декагидро 2,6-диметил (16,4%), всего представленное ЛРС содержит до 14,9 % омега-3-кислот. При этом сравнительное исследование ЖК в цветах алтея показало наличие до 20,5 % омега-3-кислот, идентифицированы пальмитиновая кислота (13,0%), гептакозан (9,3%) и нонакозан (11,2%) [78].

Нами проведено исследование жирнокислотного состава грудного сбора №1 (Таблица 11).

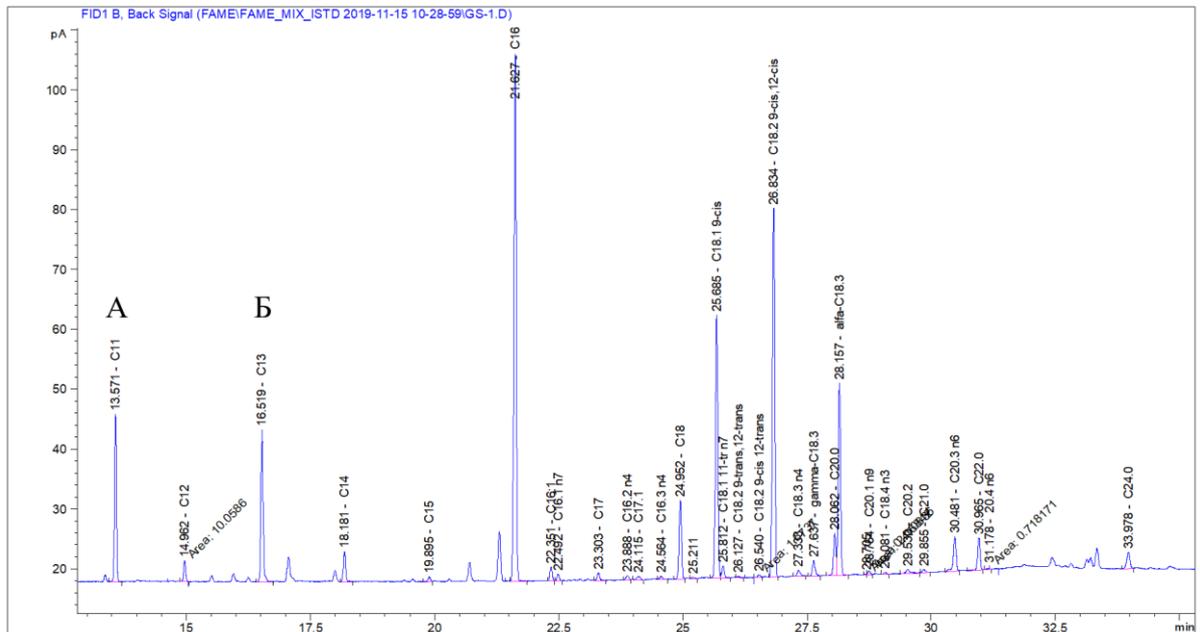
Таблица 11 – Идентифицированные жирные кислоты грудного сбора №1

Название жирной кислоты (ЖК)	Индекс ЖК	Содержание, %
<i>Насыщенные ЖК</i>		
пентадекановая	15:0	0,31

Продолжение Таблицы 11

Название жирной кислоты (ЖК)	Индекс ЖК	Содержание, %
гептадеценная	17:1	0,31
маргариновая	17:0	0,48
лауриновая	12:0	0,82
лигноцериновая	24:0	1,27
миристиновая	14:0	1,76
бегеновая	22:0	2,02
арахиновая	20:0	2,46
стеариновая	18:0	4,63
пальмитиновая	16:0	30,39
<i>Сумма насыщенных жирных кислот</i>		44,45
<i>Ненасыщенные ЖК</i>		
арахидоновая	20:4 п6	0,07
гондоиновая	20:1	0,23
эйкозодиеновая	20:2	0,47
гексадеценная	16:1	0,82
γ -линоленовая	18:3 ω -6 6ц,9ц,12ц	1,13
эйкозатриеновая п6	20:3 8,11,14-цис	2,40
α -линоленовая	18:3 ω -3 9ц,12ц,15ц	11,36
линолевая	18:2	21,91
<i>Сумма ненасыщенных жирных кислот</i>		38,39
<i>Транс-цис-изомеры жирных кислот</i>		
элаидиновая	18:1 9-транс	0,11
цис, транс-линолевая	18:2 9-цис, 12-транс	0,17
пальмитолеиновая	16:1 9-цис	0,38
вакценовая	18:1 11-транс	0,77
олеиновая	18:1 9-цис	15,65
<i>Сумма транс-цис-изомеров жирных кислот</i>		17,08

На хроматограмме (Рисунок 34) представлены времена удерживания внутренних стандартов, используемых в анализе, а также идентифицированных жирных кислот и их изомеров.



А – внутренний стандарт №1, Б – внутренний стандарт №2

Рисунок 34 – Хроматограмма жирнокислотного состава грудного сбора №1

В ходе нашего исследования было обнаружено 10 насыщенных жирных кислот (преобладает пальмитиновая кислота – 30,39 %), 8 ненасыщенных ЖК (мажорная кислота – линолевая с содержанием 21,91 %) и 5 транс-цис-изомеров ЖК (превалирует 18:1 9-*цис*-олеиновая кислота – 15,65 %).

4.9. Определение компонентного состава летучих органических веществ

В ходе исследования обнаружено 85 соединений, два из которых (1,9-декадиен и толуол) являются возможными контаминантами, не встречающимися в растительных объектах (Таблица 12).

Таблица 12 – Компонентный состав летучих органических веществ грудного сбора №1

Время удерживания	Соединение	CAS	Доля от обнаруженных веществ, %
14,211	Масляный альдегид	123-72-8	0,0151

Продолжение Таблицы 12

Время удерживания	Соединение	CAS	Доля от обнаруженных веществ, %
16,983	Бензол	71-43-2	0,0171
18,497	Валерьяновый альдегид (пентанал)	110-62-3	0,2003
19,648	Метилизовалерат	868-57-5	0,0933
20,322	α -туйен	2867-05-2	0,3024
21,224	Толуол	108-88-3	0,1822
22,008	Камфен	79-92-5	0,1440
22,628	Капроновый альдегид	66-25-1	0,5660
23,526	бета-Пинен	127-91-3	0,1093
24,024	Туйен	3387-41-5	0,5051
24,848	Пентенон	625-33-2	0,0159
25,001	Метилпентенон	141-79-7	0,0932
25,600	Мирцен	123-35-3	0,0466
25,764	Пентиловый спирт	616-25-1	0,0637
25,905	1,9-Декадиен	1647-16-1	0,9852
26,591	1,3-Терпинен	99-86-5	0,3330
26,849	Метиламилкетон	110-43-0	0,0835
26,941	Гептиловый альдегид	111-71-7	0,1485
27,175	м-Ксилол	108-38-3	0,1161
27,402	Лимонен	138-86-3	0,7635
27,987	Цинеол	470-82-6	2,2977
28,133, 43,522	Пулегон (п-мент-4(8)-ен-3-он)	89-82-7	2,1199; 21,664
28,547	Гексеналь	505-57-7	0,6078
28,958	Метилгептанон	928-68-7	0,0888
29,129	н-Амиловый спирт	71-41-0	0,1318
29,283	1,4-Терпинен	99-85-4	0,5282
29,597	3-Октанон	106-68-3	0,3649
30,375	Цимен	25155-15-1	1,4780
30,776	Терпинолен	586-62-9	0,1245
30,929	Каприловый альдегид	124-13-0	0,5387
31,495	изо-Гептиловый спирт	543-49-7	0,1265
32,490	транс-гептеналь	18829-55-5	0,1626
32,702	Метилгептенон	110-93-0	0,9001
32,782	Гексиловый спирт	111-27-3	0,5059
34,067	цис-Гекс-3-ениловый спирт	928-96-1	0,9271
34,461	Метилгептилктеон	821-55-6	0,0416
34,657	Нониловый альдегид	124-19-6	0,1723
35,416	Фенхон	1195-79-5	0,1481
36,021	изо-Октениловый спирт	3391-86-4	1,2788
36,217	1-изопропил-4-метилбицикло[3,1,0]гексан-3-он	546-80-5	2,3898

Продолжение Таблицы 12

Время удерживания	Соединение	CAS	Доля от обнаруженных веществ, %
36,907	туйон	1125-12-8	3,1431
37,651	(-)-Ментон	89-80-5	8,8519
37,936	Деканон	693-54-9	0,4968
38,141	3-этил-4-метил-1-пентанол	100431-87-6	0,2759
38,383	Гептадиеновый альдегид	4313-03-5	0,3111
38,607	п-ментан-3-он (изоментон)	10458-14-7	3,5317
39,023, 40,730	Октадиенон	30086-02-3	0,4487; 0,2146
39,183, 40,985	Линалоол	78-70-6	2,0175; 0,0751
39,336	dill ether «укропный эфир»	70786-44-6	0,4472
39,532	Октиловый спирт	111-87-5	1,3291
39,696	Бензальдегид	100-52-7	2,6857
40,253	цис-4-(изопропил)-1-метилциклогекс-2-ен-1-ол	29803-82-5	0,1839
40,504	4-ацетил-1-метилциклогексен	6090-09-1	0,1105
41,226, 42,513	1-метил-4-(1-метилэтил)-циклогексанол (дигидро-γ-терпинеол)	21129-27-1	0,6337; 1,0199
41,632	4-терпинеол	562-74-3	1,8940
42,301	транс-дигидрокарвон	5948-04-9	1,0037
42,669	Триметилциклогексеновый альдегид	432-25-7	0,1662
42,928	Дигидрокарвон	1478602	0,4397
43,086	Миртеналь	564-94-3	0,1111
43,214	Сабинен	513-20-2	0,5112
43,842	Эстрагол	140-67-0	0,4236
44,291	Терпинеол	98-55-5	0,5706
44,647	Борнеол	507-70-0	0,4694
46,059	Карвон	99-49-0	20,9732
46,378	δ-кадинен	483-76-1	0,0734
46,619	Азулен	275-51-4	0,078
47,159	Миртенол	515-00-4	0,1253
47,373	Метилсалицилат	119-36-8	0,0966
47,432	Куминовый альдегид	122-03-2	0,3006
48,347	Анетол	104-46-1	1,2495
48,481	п-Цименол-8	1197-01-9	0,1254
48,611	6,10-диметил-5,9-ундекадиен-2-он	689-67-8	0,2258
49,432	Бензиловый спирт	100-51-6	0,1427
49,765	Аскаридол	512-85-6	0,1209
50,442	Фенилэтиловый спирт	60-12-8	0,1624
51,029	α-калакорен	21391-99-1	0,1202
53,179	Кариофиллен эпоксид	1139-30-6	0,7744

Продолжение Таблицы 12

Время удерживания	Соединение	CAS	Доля от обнаруженных веществ, %
54,106	Анисовый альдегид	123-11-5	0,1590
54,57	Каприловая кислота	124-07-2	0,0809
54,781	Гумулен-1,2-эпоксид	19888-34-7	0,1912
56,626	Спатуленол	6750-60-3	0,2321
57,801	Тимол	89-83-8	1,6631
59,054	Карвакрол	499-75-2	0,2020
62,364	2,4-ди-трет-бутил-фенол	96-76-4	0,0555
67,708	Дигидроактинидиолид	17092-92-1	0,0962

Хроматограмма летучих органических веществ грудного сбора №1 представлена на Рисунке 35.

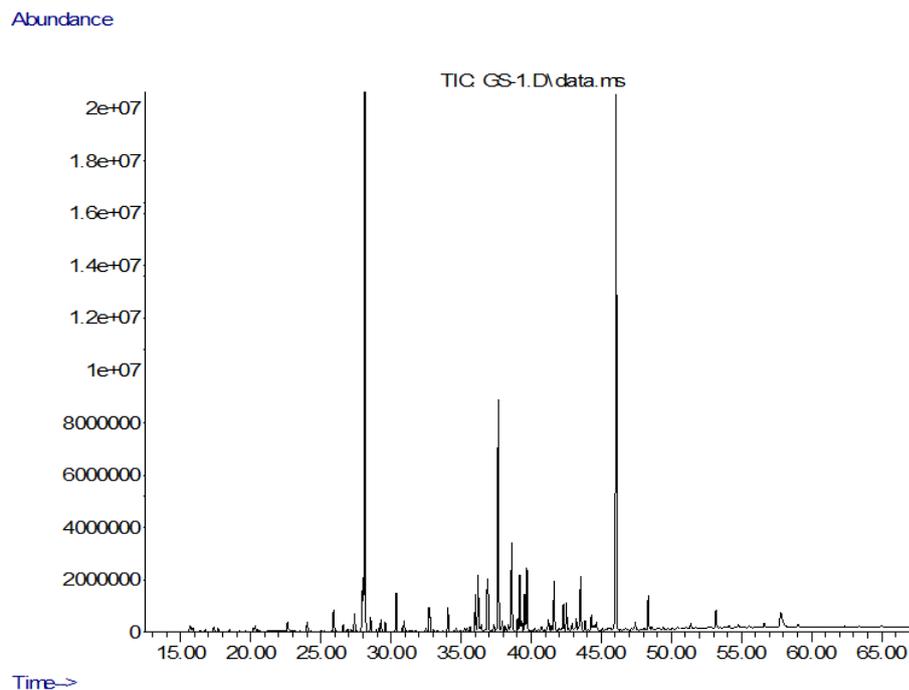


Рисунок 35 – Хроматограмма летучих органических веществ ГС №1

По результатам исследования определено преобладающее содержание пулегона (23,7839 %), карвона (20,9732 %), ментона (8,8519 %), п-ментан-3-она (3,5317 %), туйона (3,1431 %). Данные соединения, предположительно, являются компонентами эфирного масла душицы обыкновенной травы, соответственно,

можно сделать вывод о том, что содержание данной группы БАС в ГС №1 обеспечивается за счёт этого компонента.

4.10. Определение суммы свободных органических кислот

Суммарное содержание свободных органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту проводили по методике ГФ РФ ОФС «Рябины обыкновенной плоды» [47]. Результаты представлены в Таблице 13.

Таблица 13 – Содержание суммы органических кислот в ГС №1, его компонентах и настоях на их основе, определённое титриметрическим методом

Наименование ЛРС	Содержание, %					
	1	2	3	4	5	Среднее
<i>Измельчённое ЛРС, выпускаемое в пачках</i>						
Аллея корни	0,98	0,96	0,94	0,95	0,97	0,96±1,65
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,12	1,08	1,05	1,10	1,07	1,08±2,49
Душицы обыкновенной трава	1,94	1,98	1,95	1,97	1,96	1,96±0,81
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	1,55	1,48	1,59	1,62	1,53	1,55±3,48
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	1,53	1,59	1,57	1,62	1,60	1,58±2,16
<i>ЛРС-порошок, выпускаемое в фильтр-пакетах</i>						
Аллея корни	0,91	0,93	0,92	0,95	0,93	0,93±1,60
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,05	1,08	1,04	1,02	1,03	1,04±2,21
Душицы обыкновенной трава	1,94	1,95	1,93	1,92	1,92	1,93±0,67
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	1,48	1,42	1,46	1,37	1,39	1,42±3,24
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	1,52	1,48	1,45	1,50	1,42	1,47±2,70
<i>Настой измельчённого ЛРС, выпускаемого в пачках, изготовленный в соответствии с ИМП ЛП</i>						
Аллея корни	0,11	0,10	0,11	0,11	0,11	0,11±4,14
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	0,16	0,16	0,16	0,17	0,17	0,16±3,34
Душицы обыкновенной трава	0,24	0,26	0,25	0,23	0,24	0,24±4,67
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	0,42	0,43	0,41	0,43	0,45	0,43±3,47
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	0,43	0,44	0,43	0,41	0,42	0,43±2,68
<i>Настой измельчённого ЛРС, выпускаемого в пачках, изготовленный в соответствии с ОФС «Настой и отвары»</i>						
Аллея корни	0,98	0,90	0,92	0,95	0,99	0,95±4,04
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,48	1,44	1,50	1,53	1,53	1,50±2,53
Душицы обыкновенной трава	2,16	2,34	2,25	2,07	2,16	2,20±4,67
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	3,78	3,87	3,69	3,87	4,05	3,85±3,47

Продолжение Таблицы 13

Наименование ЛРС	Содержание, %					
	1	2	3	4	5	Среднее
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	3,87	3,96	3,87	3,69	3,78	3,83±2,68
<i>Настой ЛРС-порошка, выпускаемого в фильтр-пакетах, изготовленный в соответствии с ИМП ЛП</i>						
Алтея корни	0,11	0,12	0,11	0,12	0,11	0,11±4,80
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	0,12	0,12	0,11	0,12	0,11	0,12±4,72
Душицы обыкновенной трава	0,27	0,26	0,28	0,27	0,26	0,27±3,12
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	0,44	0,43	0,45	0,44	0,46	0,44±2,57
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	0,49	0,47	0,48	0,46	0,49	0,48±2,73
<i>Настой ЛРС-порошка, выпускаемого в фильтр-пакетах, изготовленный в соответствии с ОФС «Настои и отвары»</i>						
Алтея корни	0,66	0,72	0,66	0,72	0,66	0,68±4,80
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	0,72	0,70	0,69	0,71	0,66	0,70±3,31
Душицы обыкновенной трава	1,62	1,56	1,68	1,62	1,56	1,61±3,12
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	2,64	2,58	2,70	2,64	2,76	2,66±2,57
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	2,94	2,82	2,88	2,76	2,94	2,87±2,73

Примечание: ГС №1 КГЛС – сбор производства АО «Красногорсклексредства», ГС №1 Здоровье – сбор, производства ООО «Фирма «Здоровье»

В ходе исследования было выявлено наличие большего количества свободных органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту в траве душицы обыкновенной (от 1,92 % до 1,98 % в ЛРС; от 0,23 % до 2,34 % в настоях, приготовленных из измельчённого сырья и порошка в соответствии с требованиями ИМП ЛП и ОФС «Настои и отвары»), наименьшего – в корнях алтея (от 0,91 % до 0,98 % в ЛРС; от 0,10 % до 0,99 % в настоях, приготовленных в соответствии с требованиями ИМП ЛП и ОФС «Настои и отвары» из измельчённого сырья и порошка). Для мать-и-мачехи обыкновенной листьев определено от 1,02 % до 1,12 % органических кислот в сырье, от 0,11 % до 1,53 % в настоях, полученных из измельчённого сырья и порошка, приготовленных в соответствии с требованиями ИМП ЛП и ОФС «Настои и отвары».

В ГС №1 измельчённом и сборе-порошке обоих производителей обнаружено от 1,37 % до 1,59 % свободных органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту; в настоях, приготовленных из измельчённого сбора и порошка в соответствии с требованиями ИМП ЛП и ОФС «Настои и отвары» – от 0,41 %

до 4,05 %, соответственно.

Полученные данные количественного определения суммы свободных органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту в ГС №1, его компонентах и настоях на их основе, приготовленных в соответствии с инструкцией по медицинскому применению лекарственного препарата и ОФС «Настои и отвары», позволяют сделать вывод о существенном вкладе в наличие данной группы БАС ГС №1 травы душицы обыкновенной.

4.11. Определение дубильных веществ

Таблица 14 содержит данные, полученные в результате определения суммы дубильных веществ в пересчёте на танин титриметрическим методом.

Таблица 14 – Содержание суммы дубильных веществ грудного сбора №1, его компонентов и настоев на их основе, определённое титриметрическим методом

Наименование ЛРС	Содержание, %					
	1	2	3	4	5	Среднее
<i>Измельчённое ЛРС, выпускаемое в пачках</i>						
Аллея корни	1,21	1,22	1,21	1,21	1,22	1,21±0,45
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	2,63	2,64	2,62	2,63	2,63	2,63±0,27
Душицы обыкновенной трава	2,68	2,67	2,66	2,68	2,66	2,67±0,37
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	2,15	2,21	2,12	2,08	2,03	2,12±3,23
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	2,05	2,10	2,08	2,15	2,07	2,09±1,82
<i>ЛРС-порошок, выпускаемое в фильтр-пакетах</i>						
Аллея корни	1,23	1,22	1,23	1,22	1,23	1,23±0,45
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	2,68	2,68	2,67	2,68	2,66	2,67±0,33
Душицы обыкновенной трава	2,72	2,71	2,72	2,73	2,73	2,72±0,31
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	2,15	2,13	2,18	2,08	2,04	2,12±2,64
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	2,06	2,09	2,15	2,10	2,13	2,11±1,67
<i>Настой измельчённого ЛРС, выпускаемого в пачках, изготовленный в соответствии с ИМП ЛП</i>						
Аллея корни	0,11	0,11	0,11	0,12	0,11	0,11±3,99
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	0,28	0,27	0,28	0,26	0,28	0,27±3,26
Душицы обыкновенной трава	0,38	0,37	0,36	0,38	0,36	0,37±2,70
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	0,59	0,59	0,56	0,57	0,58	0,58±2,26
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	0,57	0,58	0,56	0,56	0,57	0,57±1,47
<i>Настой измельчённого ЛРС, выпускаемого в пачках, изготовленный в соответствии с ОФС</i>						

Продолжение Таблицы 14

Наименование ЛРС	Содержание, %					Среднее
	1	2	3	4	5	
<i>«Настои и отвары»</i>						
Аллея корни	0,66	0,66	0,66	0,72	0,66	0,67±3,99
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,68	1,62	1,68	1,56	1,68	1,64±3,26
Душицы обыкновенной трава	2,28	2,22	2,16	2,28	2,16	2,22±2,70
ГС №1 КГЛС, сбор измельчённый	3,54	3,54	3,36	3,42	3,48	3,47±2,26
ГС №1 Здоровье, сбор измельчённый	3,42	3,48	3,36	3,36	3,42	3,41±1,47
<i>Настой ЛРС-порошка, выпускаемого в фильтр-пакетах, изготовленный в соответствии с ИМП ЛП</i>						
Аллея корни	0,11	0,10	0,11	0,11	0,11	0,11±4,14
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	0,21	0,23	0,22	0,22	0,21	0,22±3,84
Душицы обыкновенной трава	0,24	0,26	0,25	0,23	0,25	0,25±4,63
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	0,68	0,67	0,69	0,68	0,69	0,68±1,23
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	0,57	0,58	0,57	0,59	0,57	0,58±1,55
<i>Настой ЛРС-порошка, выпускаемого в фильтр-пакетах, изготовленный в соответствии с ОФС «Настои и отвары»</i>						
Аллея корни	0,66	0,60	0,66	0,66	0,66	0,65±4,14
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	1,26	1,38	1,32	1,32	1,26	1,31±3,84
Душицы обыкновенной трава	1,44	1,56	1,50	1,38	1,50	1,48±4,19
ГС №1 КГЛС, сбор-порошок	4,08	4,02	4,14	4,08	4,14	4,09±1,23
ГС №1 Здоровье, сбор-порошок	3,42	3,48	3,42	3,54	3,42	3,46±1,55

Примечание: ГС №1 КГЛС – сбор производства АО «Красногорсклексредства», ГС №1 Здоровье – сбор, производства ООО «Фирма «Здоровье»

В ходе исследования было выявлено наличие наибольшего количества дубильных веществ в пересчёте на танин в траве душицы обыкновенной (от 2,66 % до 2,73 % в ЛРС; от 0,23 % до 2,28 % в настоях, приготовленных из измельчённого сырья и порошка в соответствии с требованиями ИМП ЛП и ОФС «Настои и отвары»), наименьшего – в корнях алтея (от 1,21 % до 1,23 % в ЛРС; от 0,10 % до 0,72 % в настоях, приготовленных в соответствии с требованиями ИМП ЛП и ОФС «Настои и отвары» из измельчённого сырья и порошка). Для мать-и-мачехи обыкновенной листьев определено от 2,62 % до 2,68 % дубильных веществ в ЛРС, от 0,21 % до 1,68 % в настоях, полученных из измельчённого сырья и порошка, приготовленных в соответствии с требованиями ИМП ЛП и ОФС «Настои и отвары».

В ГС №1 измельчённом и сборе-порошке обоих производителей

обнаружено от 2,05 % до 2,21 % дубильных веществ в пересчёте на танин; в настоях, приготовленных из измельчённого сбора и порошка в соответствии с требованиями ИМП ЛП и ОФС «Настои и отвары» – от 0,56 % до 4,14 %, соответственно [14].

Полученные данные количественного определения суммы дубильных веществ в пересчёте на танин в ГС №1, его компонентах и настоях на их основе, приготовленных в соответствии с инструкцией по медицинскому применению лекарственного препарата и ОФС «Настои и отвары», позволяют сделать вывод о наибольшем вкладе в содержание данной группы БАС в ГС №1 травы душицы обыкновенной [14].

4.12. Определение элементного состава

В результате определения минеральных веществ методом ИСП-МС было обнаружено 27 элементов в ГС №1 и его компонентах (Таблица 15).

Таблица 15 – Элементный состав грудного сбора №1 и его компонентов [11]

Элемент	Корни алтея	Трава душицы обыкновенной	Листья мать-и-мачехи обыкновенной	ГС №1
<i>Макроэлементы, мг/кг</i>				
K	1125,95	2085,56	2794,17	2069,76
Ca	340,15	475,09	1219,52	748,35
Mg	255,10	121,75	194,37	184,52
Na	104,27	2,71	24,52	44,54
<i>Микроэлементы, мг/кг</i>				
Al	13,75	9,23	24,82	11,73
B	0,43	1,52	1,19	0,95
Cu	0,85	0,32	0,28	0,49
Fe	8,73	8,67	28,11	13,37
Mn	0,52	2,88	2,03	1,87
Sr	7,04	1,30	4,81	5,36
Zn	1,42	1,18	0,89	1,23
<i>Ультрамикроэлементы, мг/кг</i>				
Ag	0,009	0,003	0,008	0,0005
Ba	0,193	0,797	0,690	0,565
Co	0,008	0,006	0,04	0,023

Продолжение Таблицы 15

Элемент	Корни алтея	Трава душицы обыкновенной	Листья мать-и-мачехи обыкновенной	ГС №1
Cr	0,042	0,044	0,223	0,104
Ga	0,003	0,002	0,006	0,003
Li	0,025	0,029	0,092	0,034
Mo	0,008	0,047	0,046	0,068
Ni	0,057	0,061	0,302	0,193
Pd	0,005	0,002	0,007	0,005
V	0,022	0,024	0,063	0,034
Bi	Ниже предела обнаружения	0,001	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения
Sb	Ниже предела обнаружения	0,0003	Ниже предела обнаружения	0,0005
Se	<0,000	<0,000	0,038	0,059
Te	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения
Tl	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения
W	Ниже предела обнаружения	0,001	0,0003	0,0005
<i>Содержание тяжёлых металлов и мышьяка, мг/кг</i>				
As	0,0028	0,0051	0,0067	0,0051
Cd	0,0027	Ниже предела обнаружения	0,0086	0,0037
Hg	0,0801	0,0002	0,00005	0,0011
Pb	0,0032	0,0072	0,0085	0,007

Ряды накопления, сформированные в результате анализа полученных данных, подробнее представлены в работе [11].

В ГС №1 преобладающими макроэлементами являются калий (2069,76 мг/кг), кальций (748,35 мг/кг), микроэлементами - железо (13,37 мг/кг), алюминий (11,73 мг/кг), ультрамикроэлементами - барий (0,565 мг/кг) и никель (0,193 мг/кг).

Среди компонентов ГС №1 наибольшее количество калия, магния, железа, алюминия и никеля обнаружено в мать-и-мачехи обыкновенной листьях (2794,17 мг/кг, 1219,52 мг/кг, 28,11 мг/кг, 24,82 мг/кг и 0,302 мг/кг, соответственно), что позволяет сделать вывод о содержании этих элементов в сборе благодаря наличию в составе именно этой группы сырья. Однако содержание бария больше в корнях алтея (0,797 мг/кг) нежели в остальных компонентах сбора, что предполагает вклад данного ЛРС в высокое содержание указанного элемента в

ГС№1.

Анализ содержания тяжёлых металлов в сборе показал содержание мышьяка, цинка, кадмия и ртути в диапазоне предельно допустимой концентрации и соответствие ГС №1 требованиям ОФС [34].

При сравнительном анализе исследуемых образцов отмечено варьирование в содержании отдельных жизненно важных и токсичных элементов в зависимости от исследуемого растения (Таблица 16).

Таблица 16 – Содержание элементов в грудном сборе №1 и его компонентах с учётом их процентного содержания [11]

Элемент	Корни алтея	Трава душицы обыкновенной	Листья мать-и-мачехи обыкновенной	ГС №1
Макроэлементы, мг/кг				
	40%	20%	40%	100%
K	450,38	417,11	1117,66	2069,76
Ca	136,06	95,01	487,8	748,35
Mg	102,04	24,35	77,74	184,52
Na	41,71	0,54	9,8	44,54
Микроэлементы, мг/кг				
Al	5,55	1,84	9,93	11,73
B	0,17	0,3	0,47	0,95
Cu	0,34	0,06	0,11	0,49
Fe	3,49	1,73	11,24	13,37
Mn	0,21	0,57	0,81	1,87
Sr	2,81	0,26	1,92	5,36
Zn	0,57	0,23	0,35	1,23
Ультрамикроэлементы, мг/кг				
Ag	0,003	0,0007	0,003	0,0005
Ba	0,077	0,159	0,276	0,565
Co	0,003	0,001	0,016	0,023
Cr	0,016	0,008	0,089	0,104
Ga	0,001	0,0004	0,002	0,003
Li	0,010	0,005	0,036	0,034
Mo	0,003	0,009	0,018	0,068
Ni	0,022	0,012	0,121	0,192
Pd	0,002	0,0003	0,002	0,005
V	0,008	0,004	0,025	0,034
Bi	Ниже предела обнаружения	0,0002	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения
Sb	Ниже предела обнаружения	0,00005	Ниже предела обнаружения	0,0005
Se	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения	0,015	0,059

Продолжение Таблицы 16

Элемент	Корни алтея	Трава душицы обыкновенной	Листья мать-и-мачехи обыкновенной	ГС №1
Te	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения
Tl	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения	Ниже предела обнаружения
W	Ниже предела обнаружения	0,0002	0,0001	0,0005

Полученные данные дают возможность сделать вывод о том, что высокое содержание калия, кальция и магния в сборе можно объяснить высоким содержанием данных элементов в каждом из компонентов. В частности, на концентрации элементов повлияло их повышенное содержание в листьях мать-и-мачехи обыкновенной.

4.13. Определение аминокислотного состава

Результаты анализа аминокислотного профиля ГС №1 и настоя представлены в Таблице 17.

Таблица 17 – Содержание аминокислот в грудном сборе №1 и его настое

Наименование	Содержание		
	ГС №1, мг/г	Настой (1), мг/100 мл	Настой (2), мг/100 мл
Аспарагиновая кислота	2,86	9,47	22,61
Глутаминовая кислота	0,68	2,14	5,62
Серин	0,17	0,4	-
Цистеин	-	0,15	0,61
Глицин	0,07	0,34	0,68
Гистидин	0,12	0,28	0,88
Аргинин	2,32	4,47	20,21
Аланин	0,71	0,69	6,44
Тирозин	-	-	-
Валин	0,07	0,23	1,02
Триптофан	0,14	0,32	1,48
Изолейцин	-	-	-
Лейцин	-	0,1	-
Лизин	0,08	0,18	0,76

Продолжение Таблицы 17

Наименование	Содержание		
	ГС №1, мг/г	Настой (1), мг/100 мл	Настой (2), мг/100 мл
Пролин	20,59	20,14	198,42
Сумма аминокислот	27,81	38,91	258,73

Примечание: Настой (1) – настой, приготовленный согласно инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата; Настой (2) – настой, приготовленный согласно ГФ РФ ОФС «Настои и отвары»

По результатам исследования выявлено наличие 15 аминокислот, преобладающими из которых являются пролин (20,59 мг/г), аспарагиновая кислота (2,86 мг/г) и аргинин (2,32 мг/г).

Таким образом, нами был исследован комплекс БАС в грудном сборе №1 (Таблица 18).

Таблица 18 – Основные группы биологически активных соединений

Группа БАС	Содержание, %		
	ЛРС ГС №1	Настой ГС №1 (1)	Настой ГС №1 (2)
Полисахариды (гравиметрия)	17,37 %	1,71 %	10,28 %
Сумма полисахаридов и свободных сахаров в пересчёте на глюкозу (СФМ)	21,63 %	2,11 %	13,11 %
Флавоноиды (СФМ)	2,01 %	0,60 %	3,56 %
Дубильные вещества (Титриметрия)	2,13 %	0,60 %	3,61 %
Экстрактивные вещества (Сухой остаток, гравиметрия)	29,06 %	2,82 %	2,76 %
Сумма органических кислот	1,48 %	0,45 %	3,30 %
Аминокислоты (ВЭЖХ)	27,81 мг/г	38,91 мг/100 мл	258,73 мг/100 мл

Примечание: Настой ГС №1 (1) – настой, приготовленный согласно инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата; Настой ГС №1 (2) – настой, приготовленный согласно ГФ РФ ОФС «Настои и отвары»

Результаты, представленные в Таблице 18, показывают, что в настой переходят все группы БАС, содержащиеся в ЛРС. На основе полученных данных можно сделать вывод, что ГС №1 и настой, созданный на его основе, представляют собой готовые фитопрепараты с комплексным действием. Их фармакологический эффект определяется синергетическим воздействием различных растительных компонентов и групп БАС, в них содержащихся.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Используя различные методы, как включённые в ГФ РФ в виде соответствующих ОФС, так и нефармакопейные методы, включая метод ИК-НПВО, получена информация о наличии в ГС №1 различных групп БАС, включая полисахариды, простые сахара, слизи, уроновые кислоты, флавоноиды, дубильные вещества, сапонины, азотсодержащие соединения, жирные и аминокислоты. Более детально изучены флавоноиды и полисахариды (качественные реакции, ТСХ, УЭЖХ-МС).

2. В измельчённом сборе и сборе-порошке, настоях на их основе проведена количественная оценка содержания полисахаридов (от $17,17 \pm 3,36$ % до $18,38 \pm 2,59$ % для сбора; от $1,63 \pm 3,42$ % до $1,76 \pm 2,29$ % для настоя); суммы полисахаридов и свободных сахаров в пересчёте на глюкозу (от $20,27 \pm 2,77$ % до $21,75 \pm 1,62$ % – сбор; от $2,00 \pm 2,54$ % до $2,19 \pm 0,94$ % – настой); суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин (от 1,94 до 2,08 % в сборе; от 0,51 до 4,14 % – в настое); суммы свободных органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту (от 1,37 до 1,59 % в сборе; от 0,41 до 4,05 % – в настое); суммы дубильных веществ в пересчёте на танин (от 2,05 до 2,21 % – сбор, от 0,56 до 4,14 % – настой). Проанализированы количественно перечисленные группы БАС в компонентах сбора для оценки компонента, который вносит наибольший вклад.

3. Исследовано количественное содержание элементов и тяжёлых металлов ГС №1 (превышения норм последних не наблюдалось), а также аминокислот, жирных кислот и летучих органических веществ (компонентов эфирного масла).

4. Выявлено, что основные группы БАС, оказывающие фармакологические эффекты, переходят из ЛРС в настой ГС №1.

ГЛАВА 5. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ВОССТАНАВЛИВАЮЩИХ САХАРОВ В СОСТАВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Одним из классов БАС, активно использующимся в медицинской практике и содержащемся в грудном сборе №1, являются полисахариды. Данная группа БАС переходит в настой – экстракционную лекарственную форму, разрешённую для медицинского применения. В настоящее время контроль качества ГС №1 проводится по суммарному содержанию экстрактивных веществ, извлекаемых водой, а известная методика определения суммы полисахаридов гравиметрическим методом является трудоёмкой и не позволяет оценить содержание восстанавливающих сахаров после гидролиза полисахаридного комплекса. Исходя из этого, нами были разработаны методики определения суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов со спектрофотометрическим детектированием (Рисунок 36).

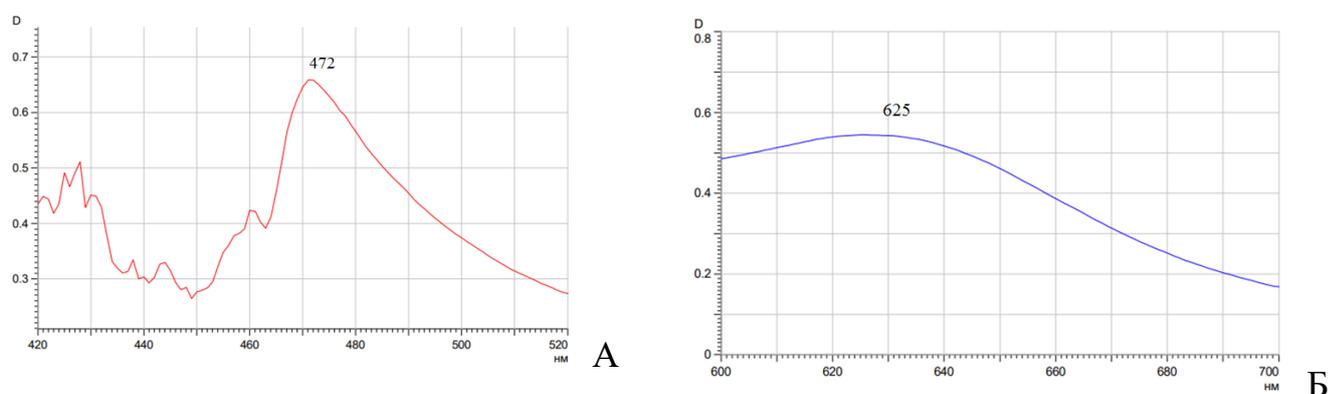


Рисунок 36 – УФ-спектры комплекса восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов грудного сбора №1 с пикриновой кислотой в максимуме при 472 нм (А) и антрон-сернистым реактивом в максимуме при 630 нм (Б)

На Рисунке 5.1 изображены максимумы поглощения комплекса восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов грудного сбора №1 с пикриновой кислотой (472 нм) и антрон-сернистым реактивом (630 нм).

5.1. Пробоподготовка образцов для анализа

Для извлечения полисахаридов из ЛРС наиболее значимыми параметрами являются: степень измельчённости сырья, используемый экстрагент и его концентрация, кратность экстракции, время экстракции (Таблицы 19-26).

Пикриновый метод

Таблица 19 – Влияние степени измельчённости ЛРС на количественную экстракцию полисахаридов грудного сбора №1

Измельчённость, мм	Содержание суммы полисахаридов, %
0,5	9,78
1,0	10,34
2,0	15,12

Таблица 20 – Влияние соотношения сырьё:экстрагент на полноту извлечения полисахаридов грудного сбора №1

Соотношение сырьё:экстрагент	Содержание суммы полисахаридов, %
1:250	8,76
1:125	11,45
1:50	15,23
1:25	20,87

Таблица 21 – Влияние кратности экстракции на полноту извлечения полисахаридов грудного сбора №1

Кратность экстракции	Содержание суммы полисахаридов, %
Однократная	7,58
Двукратная	10,44
Трёхкратная (по 30 мин)	15,27

Таблица 22 – Влияние времени экстракции на полноту извлечения полисахаридов грудного сбора №1

Время экстракции, мин	Содержание суммы полисахаридов, %
30	15,25
45	13,16
60	8,82

Антроновый метод

Таблица 23 – Влияние степени измельчённости ЛРС на количественную экстракцию полисахаридов грудного сбора №1

Измельчённость, мм	Содержание суммы полисахаридов, %
0,5	9,82
1,0	10,24
2,0	14,67

Таблица 24 – Влияние соотношения сырьё:экстрагент на полноту извлечения полисахаридов грудного сбора №1

Соотношение сырьё:экстрагент	Содержание суммы полисахаридов, %
1:250	7,67
1:125	9,14
1:50	14,58
1:25	19,79

Таблица 25 – Влияние кратности экстракции на полноту извлечения полисахаридов грудного сбора №1

Кратность экстракции	Содержание суммы полисахаридов, %
Однократная	6,73
Двукратная	10,17
Трёхкратная (по 30 мин)	14,43

Таблица 26 – Влияние времени экстракции на полноту извлечения полисахаридов грудного сбора №1

Время экстракции, мин	Содержание суммы полисахаридов, %
30	14,54
45	12,56
60	9,95

5.2. Валидационные характеристики методики

Валидация методик количественного определения суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов с использованием метода спектрофотометрии проводилась в соответствии с требованиями ГФ РФ XV

ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» [28].

Валидация методик количественного определения суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов проводилась по разделам: линейность, правильность, повторяемость, внутрилабораторная прецизионность.

5.2.1. Реактивы и материалы

- Стандартный образец глюкозы (чистота 98,0%)
- Спирт этиловый 96% (Гатчинский спиртовый завод)
- Вода дистиллированная
- Натрия карбонат безводный (Fisher Scientific)
- Пикриновая кислота (Вектон)
- Антрон (ЛенРеактив)
- Натрия гидроксид (ЛенРеактив)
- Хлористоводородная кислота концентрированная (Сигма Тек)
- Серная кислота концентрированная (Сигма Тек)

5.2.2. Расчёт содержания суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов

Пикриновый метод

Содержание суммы восстанавливающих сахаров (в составе полисахаридов) в пересчете на глюкозу в абсолютно сухом препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 500 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 25 \cdot a_0 \cdot 5 \cdot P \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 25 \cdot 25 \cdot 10 \cdot 250 \cdot 25 \cdot (100 - W) \cdot 100},$$

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, %.

Антроновый метод

Суммарное содержание восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на абсолютно сухое сырьё 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, %.

5.2.3. Приготовление растворов стандартных образцов

Для обеих методик готовят водный раствор стандартного образца глюкозы с концентрацией 0,2 мг/мл.

5.2.4. Метрологические характеристики методики

Метрологические характеристики методики определения суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в ГС №1 представлены в Таблице 27.

Таблица 27 – Метрологические характеристики ($n = 6$, $P_x = 0,95$, $t(p,f) = 2,57$)

Используемый реактив	\bar{X} , %	S_x	$t(P;6)$	Δx	RSD , %
<i>Пикриновый метод</i>	15,22	0,74	2,57	0,77	4,84
<i>Антроновый метод</i>	15,17	0,04	2,57	0,04	0,27

5.2.5. Линейность

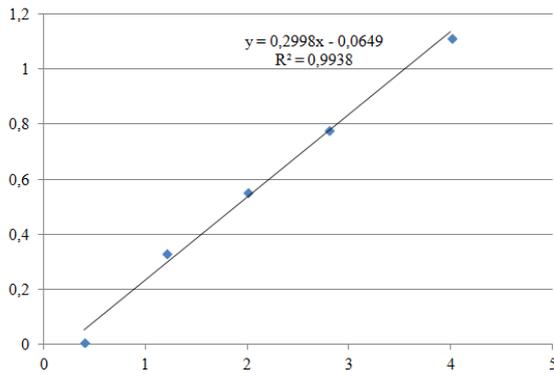
Проводилась оценка зависимости оптической плотности (y) от концентрации активного вещества (x), которая описывается уравнением линейной регрессии типа $y = b_0 + b_1x$, степень приближения к которому выражается величиной коэффициента корреляции. Определение линейности проводили на 5 уровнях концентраций глюкозы – 20, 60, 100, 140, 200 % от нормируемого значения. Значение оптической плотности (A) рассчитывали как среднее из трёх измерений (Таблицы 28-29, Рисунок 37).

Таблица 28 – Результаты определения линейности (пикриновый метод)

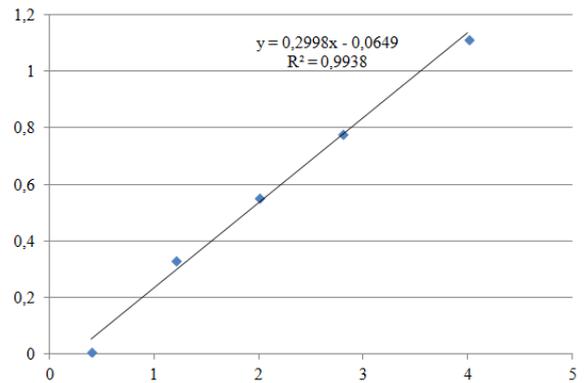
Концентрация глюкозы (мкг/мл) в растворе1	Концентрация глюкозы (мкг/мл) в растворе2	Концентрация глюкозы (мг/мл) в испытуемом растворе	Содержание, % от нормируемого значения (около)	Оптическая плотность
200	40	0,4	20	0,011128
200	120	1,2	60	0,333856
200	200	2	100	0,556428
200	280	2,8	140	0,778999
200	400	4	200	1,112856

Таблица 29 – Результаты определения линейности (антроновый метод)

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
200	40	0,4	20	0,011128
200	120	1,2	60	0,333856
200	200	2	100	0,556428
200	280	2,8	140	0,778999
200	400	4	200	1,112856



А



Б

Рисунок 37 – Графики зависимости оптической плотности от концентрации глюкозы в методике с использованием пикринового метода (А) и антронового метода (Б)

5.2.6. Повторяемость

Для определения повторяемости проводился анализ одним аналитиком на одной серии в течение короткого промежутка времени с использованием одних и тех же реактивов и оборудования в шести повторностях.

Для данного раздела критерием приемлемости является относительное стандартное отклонение (RSD) менее 10 % (Таблицы 30-31).

Таблица 30 – Результаты определения повторяемости методики (пикриновый метод)

Повторность	Навеска, г	Полученное значение, %
1	10,0002	15,15
2	10,0003	15,41
3	10,0001	16,34
4	10,0004	15,23
5	10,0002	15,17
6	10,0000	14,03
Среднее значение, %		15,22
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		4,84

Таблица 31 – Результаты определения повторяемости методики (антроновый метод)

Повторность	Навеска, г	Полученное значение, %
1	10,0002	15,15

Продолжение Таблицы 31

Повторность	Навеска, г	Полученное значение, %
2	10,0003	15,21
3	10,0001	15,14
4	10,0004	15,23
5	10,0002	15,17
6	10,0000	15,13
Среднее значение, %		15,17
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		0,27

5.2.7. Внутрिलाбораторная прецизионность (воспроизводимость)

Проводился анализ двумя аналитиками на трёх сериях в разное время в трёх повторностях для каждого аналитика.

Критерий приемлемости для данного раздела – значение относительного стандартного отклонения менее 10 % (Таблицы 32-33).

Таблица 32 – Результаты определения внутрिलाбораторной прецизионности (пикриновый метод)

Повторность	Аналитик	Полученные значения, %		
		Образец 1	Образец 2	Образец 3
1	1	15,61	15,09	15,98
2	1	15,08	14,18	14,83
3	1	16,28	15,11	16,21
4	2	15,04	14,15	15,31
5	2	14,52	15,14	14,59
6	2	14,12	16,12	15,56
Среднее значение, %		15,10	14,97	15,41
RSD, %		5,09	4,89	4,11

Таблица 33 – Результаты определения внутрिलाбораторной прецизионности (антроновый метод)

Повторность	Аналитик	Полученные значения, %		
		Образец 1	Образец 2	Образец 3
1	1	15,01	15,18	14,98
2	1	15,08	15,09	15,03
3	1	15,00	15,11	15,01
4	2	15,04	15,15	14,91
5	2	14,96	15,14	14,89
6	2	14,92	15,12	14,86
Среднее значение, %		15,00	15,13	14,94
RSD, %		0,38	0,21	0,46

5.2.8. Правильность

Правильность методики определяли методом добавок путём проведения анализа одним аналитиком на одной серии с установленной концентрацией определяемого вещества с добавлением разного количества стандарта. Для каждого уровня добавок проводили определение в трёх повторностях (Таблицы 34-35). Критерием приемлемости для данного раздела является «выход» (открываемость) *recovery*, величина которого должна находиться в пределах 95-105 % и определяется по формуле:
$$\text{Выход} = \frac{\text{полученное значение}}{\text{ожидаемое значение}} \cdot 100 \%$$

Таблица 34 – Результаты определения правильности методики (пикриновый метод)

Обнаружено, мг	Добавлено СО глюкозы, мг	Ожидаемое значение, мг	Полученное значение, мг	% обнаружения
2,0284	0,0420	2,0704	2,0561	99,31
2,0284	0,0420	2,0704	2,0564	99,32
2,0284	0,0420	2,0704	2,0562	99,31
2,0284	0,0840	2,1124	2,1056	99,68
2,0284	0,0840	2,1124	2,1052	99,66
2,0284	0,0840	2,1124	2,1054	99,67
2,0284	0,1260	2,1544	2,1296	98,85
2,0284	0,1260	2,1544	2,1292	98,83
2,0284	0,1260	2,1544	2,1293	98,83
2,0284	0,1680	2,1964	2,1552	98,12
2,0284	0,1680	2,1964	2,1556	98,14
2,0284	0,1680	2,1964	2,1558	98,15
Среднее значение, %				98,99

Таблица 35 – Результаты определения правильности методики (антроновый метод)

Обнаружено, мг	Добавлено СО глюкозы, мг	Ожидаемое значение, мг	Полученное значение, мг	% обнаружения
0,1023	0,0420	0,1443	0,1421	98,48
0,1023	0,0420	0,1443	0,1415	98,06
0,1023	0,0420	0,1443	0,1416	98,13
0,1023	0,0840	0,1863	0,1822	97,80
0,1023	0,0840	0,1863	0,1829	98,17
0,1023	0,0840	0,1863	0,1835	98,50
0,1023	0,1260	0,2283	0,2263	99,12
0,1023	0,1260	0,2283	0,2268	99,34
0,1023	0,1260	0,2283	0,2257	98,86

Продолжение Таблицы 35

Обнаружено, мг	Добавлено СО глюкозы, мг	Ожидаемое значение, мг	Полученное значение, мг	% обнаружения
0,1023	0,1680	0,2703	0,2659	98,37
0,1023	0,1680	0,2703	0,2655	98,22
0,1023	0,1680	0,2703	0,2661	98,45
Среднее значение, %				98,46

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Подобраны оптимальные условия выделения полисахаридов из ГС №1: выявлено, что наиболее полно полисахариды переходят в воду с помощью трёхкратной экстракции по 30 мин из навески 2,0 г измельчённого препарата до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм.

2. Разработана методика количественного определения суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов методом спектрофотометрии.

3. Методика успешно прошла валидационные испытания по параметрам: линейность, повторяемость, правильность, внутрилабораторная прецизионность и может быть использована для количественного определения суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в ГС №1.

ГЛАВА 6. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

По литературным данным в грудном сборе №1 содержится большое количество флавоноидов, которые переходят в настой – лекарственную форму, разрешённую для медицинского применения. Основными группами БАС грудного сбора №1 являются полисахариды и полифенольный комплекс соединений, включая флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, дубильные вещества. Исходя из этого, нами была разработана спектрофотометрическая методика определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин для включения в соответствующий проект ФС.

Для установления стандартного образца, который в дальнейшем будет применяться в качестве вещества сравнения, на который будет вестись пересчёт суммы действующих веществ, решено было провести анализ спектров поглощения испытуемого образца в диапазоне длин волн от 250 до 450 нм. Получены спектры извлечений ГС№1 со спиртом этиловым разной концентрации - от 40 до 96 %. По результатам испытания определён максимум поглощения при длине волны 398 ± 2 нм (Рисунок 38) и оптимальная концентрация спирта - 70 % (Таблица 36). Комплекс лютеолина с алюминия хлорида спиртовым раствором обладает максимумом, наиболее близким к максимуму комплекса с тем же реактивом водно-спиртового извлечения ГС №1.

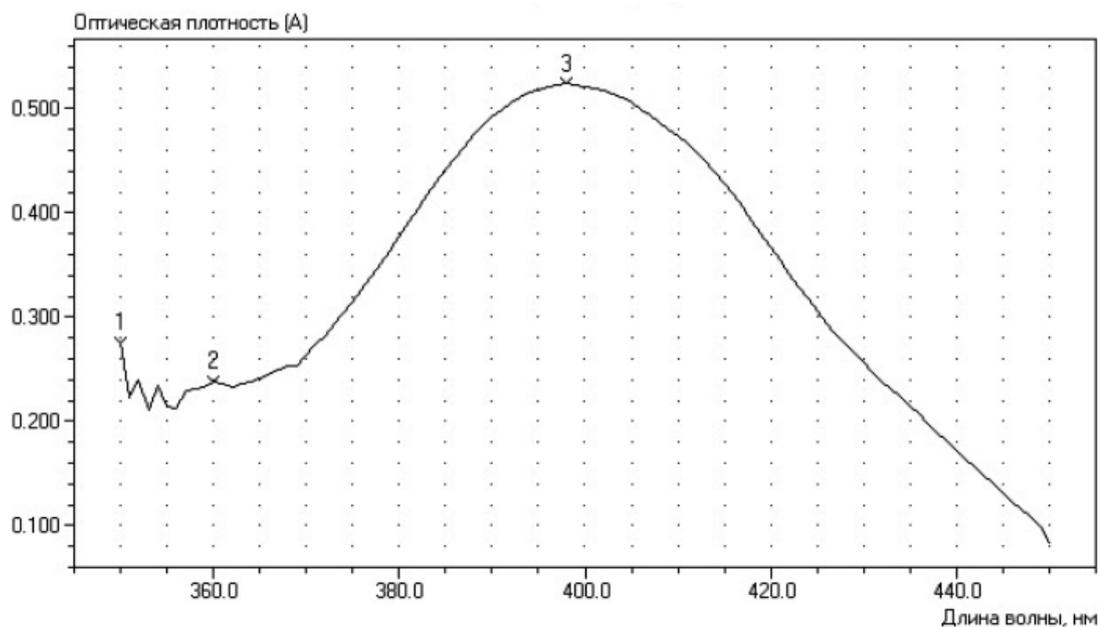


Рисунок 38 – Спектр поглощения комплекса флавоноидов грудного сбора №1 с алюминия хлоридом, максимум поглощения при длине волны 398 нм

Представленные данные позволяют обоснованно применять стандартный образец лютеолина в качестве вещества сравнения и проводить на него пересчёт полученных данных суммарного содержания флавоноидов, обнаруженных в ГС №1.

6.1. Пробоподготовка образцов для анализа

Для извлечения флавоноидов из ЛРС наиболее значимыми параметрами являются: степень измельчённости сырья, используемый экстрагент и его концентрация, кратность экстракции, время экстракции (Таблицы 36-40).

Таблица 36 – Влияние концентрации спирта этилового на полноту извлечения флавоноидов из грудного сбора №1

Концентрация спирта этилового, %	Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин, %
96	1,62
70	2,48
40	0,78

Таблица 37 – Влияние степени измельчённости ЛРС на количественную экстракцию флавоноидов грудного сбора №1

Измельчённость сырья, мм	Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин, %
0,5	0,31
1,0	2,42
2,0	1,27

Таблица 38 – Влияние соотношения сырья:экстрагент на полноту извлечения флавоноидов грудного сбора №1

Соотношение сырья:экстрагент	Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин, %
1:125	0,94
1:100	1,61
1:50	2,45

Таблица 39 – Влияние кратности экстракции на полноту извлечения флавоноидов грудного сбора №1

Кратность экстракции	Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин, %
Однократная (30 мин)	0,56
Двукратная (по 30 мин)	2,32
Трёхкратная (по 30 мин)	1,45

Таблица 40 – Влияние времени экстракции на полноту извлечения флавоноидов грудного сбора №1

Время экстракции, мин	Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин, %
20	0,32
30	2,26
45	1,59
60	1,42

6.2. Валидационные характеристики методики

Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин проводилась по разделам: линейность, правильность, повторяемость, внутрилабораторная прецизионность.

6.2.1. Реактивы и материалы

- Спирт этиловый 96% (Гатчинский спиртовый завод)
- Вода дистиллированная
- Алюминия хлорид гексагидрат (Sigma-Aldrich)
- Лютеолин (Sigma-Aldrich)

6.2.2. Расчёт содержания суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин и абсолютно сухое сырьё в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot 100 \cdot 25 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a_1 \cdot 50 \cdot 2 \cdot 25 \cdot (100 - W) \cdot 100}$$

- где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора;
 A_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца лютеолина;
 a_1 – навеска сырья, мг;
 a_0 – навеска стандартного образца лютеолина, мг;
 W – влажность сырья, %
 P – содержание лютеолина в стандартном образце лютеолина, %.

Допускается содержание суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин вычислять с использованием удельного показателя поглощения комплекса лютеолина с алюминия хлоридом.

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{549 \cdot 2 \cdot (100 - W) \cdot 100}$$

- где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора;
 549 – удельный показатель поглощения комплекса лютеолина с алюминия хлоридом при длине волны 400 нм;
 a_1 – навеска сырья, мг;
 W – влажность сырья, %

6.2.3. Подготовка стандартных образцов для анализа

Раствор стандартного образца лютеолина. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 10 мг (точная навеска) стандартного образца лютеолина, предварительно высушенного при температуре 130–135 °С в течение 3 ч, растворяют в 25 мл спирта 96 % при нагревании на водяной бане, охлаждают до комнатной температуры, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 мл полученного раствора, прибавляют 3 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 % и 0,1 мл уксусной кислоты концентрированной, доводят раствор до метки спиртом 96 % и перемешивают.

6.2.4. Метрологические характеристики методики

Таблица 41 содержит основные метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин в ГС №1.

Таблица 41 – Метрологические характеристики методики определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин в грудном сборе №1 ($n = 6$, $P_x = 0,95$, $t(p,f) = 2,57$)

Название образца	\bar{X} , %	S_x	$t (P;6)$	Δx	RSD , %
<i>Грудной сбор №1</i>	2,14	0,01	2,57	0,01	0,49

6.2.5. Линейность

Проводилась оценка зависимости оптической плотности (y) от концентрации активного вещества (x), которая описывается уравнением линейной

регрессии типа $y=b_0+b_1x$, степень приближения к которому выражается величиной коэффициента корреляции. Определение линейности проводили на 5 уровнях концентраций лютеолина – 20, 60, 100, 140, 200% от нормируемого значения. Значение оптической плотности (A) рассчитывали как среднее из трёх измерений (Таблица 42, Рисунок 39).

Таблица 42 – Результаты определения линейности методики

Концентрация лютеолина (мкг/мл) в растворе1	Концентрация лютеолина (мкг/мл) в растворе2	Концентрация лютеолина (мкг/мл) в испытуемом растворе	Содержание, % от нормируемого значения (около)	Оптическая плотность
6,002	60	2,4	20	0,1241
6,002	180	7,2	60	0,4283
6,002	300	12	100	0,6672
6,002	420	16,8	140	0,9524
6,002	600	24	200	1,3143

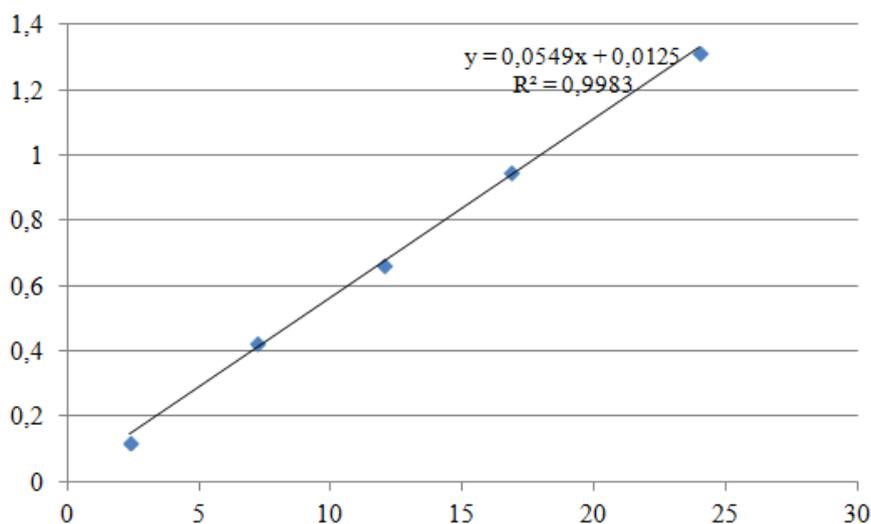


Рисунок 39 – График зависимости оптической плотности от концентрации лютеолина

6.2.6. Повторяемость

Для определения повторяемости проводился анализ одним аналитиком на одной серии в течение короткого промежутка времени с использованием одних и тех же реактивов и оборудования в шести повторностях (Таблица 43).

Таблица 43 – Результаты определения повторяемости методики

Повторность	Навеска	Полученное значение
1	2,0002	2,13
2	2,0004	2,14
3	2,0004	2,13
4	2,0001	2,12
5	2,0007	2,15
6	2,5006	2,14
Среднее значение		2,14
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		0,49

Для подтверждения данного раздела критерий приемлемости – относительное стандартное отклонение (RSD) должно быть менее 10 %.

6.2.7. Внутрिलाбораторная прецизионность (воспроизводимость)

Проводился анализ двумя аналитиками на трёх сериях в разное время в трёх повторностях для каждого аналитика. Критерием приемлемости данного раздела является значение относительного стандартного отклонения менее 10 % (Таблица 44).

Таблица 44 – Результаты определения внутрिलाбораторной прецизионности

Повторность	Аналитик	Полученные значения, %		
		Образец 1	Образец 2	Образец 3
1	1	2,07	2,09	2,05
2	1	2,08	2,11	2,03
3	1	2,05	2,10	2,01
4	2	2,04	2,12	2,02
5	2	2,09	2,13	2,04
6	2	2,06	2,12	2,03

Продолжение Таблицы 44

Повторность	Аналитик	Полученные значения, %		
		Образец 1	Образец 2	Образец 3
Среднее значение		2,07	2,11	2,03
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		0,91	0,70	0,70

6.2.8. Правильность

Правильность методики определяли методом добавок путём проведения анализа одним аналитиком на одной серии с установленной концентрацией определяемого вещества с добавлением разного количества стандарта. Для каждого уровня добавок проводили определение в трёх повторностях (Таблица 45). Критерием приемлемости для данного раздела является «выход» (открываемость) *recovery*, величина которого должна находиться в пределах 95-105% и определяется по формуле:
$$\text{Выход} = \frac{\text{полученное значение}}{\text{ожидаемое значение}} \cdot 100 \%$$

Таблица 45 – Результаты определения правильности методики

Обнаружено, мг	Добавлено СО лютеолина, мг	Ожидаемое значение, мг	Полученное значение, мг	% обнаружения
0,5671	0,0420	0,6091	0,6052	99,36
0,5671	0,0420	0,6091	0,6058	99,46
0,5671	0,0420	0,6091	0,6045	99,24
0,5671	0,0840	0,6511	0,6456	99,16
0,5671	0,0840	0,6511	0,6485	99,60
0,5671	0,0840	0,6511	0,6449	99,05
0,5671	0,1260	0,6931	0,6859	98,96
0,5671	0,1260	0,6931	0,6877	99,22
0,5671	0,1260	0,6931	0,6864	99,03
0,5671	0,1680	0,7351	0,7295	99,24
0,5671	0,1680	0,7351	0,7283	99,07
0,5671	0,1680	0,7351	0,7279	99,02
Среднее значение, %				99,20

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. Подобраны оптимальные условия выделения флавоноидов из ГС №1: выявлено, что наиболее полно флавоноидная фракция переходит в спирт 70% с помощью двукратной экстракции по 30 мин из 1,0 г измельчённого препарата до размера частиц, проходящих сквозь сито 1 мм.

2. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин методом спектрофотометрии ($2,14 \% \pm 0,49 \%$).

3. Методика успешно прошла валидационные испытания по параметрам: линейность, повторяемость, правильность, внутрилабораторная прецизионность и может быть использована для количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин в ГС №1.

ГЛАВА 7. РАЗРАБОТКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА

Процесс оценки подлинности и доброкачественности ЛРС и ЛРП сопровождается несколькими важными этапами. В первую очередь проводится оценка соответствия внешних и микроскопических признаков поступившего на анализ образца. Немаловажным в контроле качества является фитохимический анализ – идентификация и количественное определение групп БАС и их индивидуальных компонентов. Также необходимым аспектом является определение числовых показателей: допустимых и недопустимых примесей сырья и препаратов, содержания влаги, золы, тяжёлых металлов, измельчённости и др.

Ввиду того, что на ГС №1 в 1999 году была разработана и утверждена фармакопейная статья (ФС) ФС-42-1030-99 и прекратила действие в 2004 году, а в настоящее время действующая фармакопейная статья на сбор отсутствует, нами были уточнены некоторые показатели качества, которые были включены в ФС 1999 года.

В ходе проведённого диссертационного исследования нами были получены данные по содержанию влажности (Таблица 46), золы общей и нерастворимой в 10 % хлористоводородной кислоте (Таблица 47), измельчённости и посторонних примесей (Таблица 48), органической и минеральной примесей (Таблица 49), суммы экстрактивных веществ, извлекаемых водой (Таблица 50) и сухого остатка для настоя (Таблица 51). По новым разработанным методикам определено количественное содержание суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин (Таблица 52) и восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу (Таблицы 53-54).

Испытания проводились на разных сериях в течение всего срока годности препарата, установленного производителем.

7.1. Определение влажности

Влажность определяли согласно методике ГФ РФ XV издания ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения». Результаты определения влажности представлены в Таблице 46.

Таблица 46 – Результаты определения влажности ЛРС грудного сбора №1

Серия	Влажность, %
1	6,59
2	6,52
3	7,03
4	6,87
5	6,91
Среднее значение	6,78±3,22 %

Согласно полученным данным для ЛРС ГС №1 можно установить норму влажности – не более 13,0 %.

7.2. Определение золы общей и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте 10 %

Золу общую и золу, нерастворимую в хлористоводородной кислоте 10 % определяли в соответствии с ГФ РФ XV издания ОФС «Зола общая» и «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте» (Таблица 47).

Таблица 47 – Содержание золы общей и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, в грудном сборе №1

Серия	Значение золы общей, %	Значение золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте 10 %, %
1	7,56	1,26
2	7,52	1,24
3	7,54	1,22
4	7,58	1,25
5	7,51	1,21
Среднее значение	7,54±0,38 %	1,23±1,68 %

Результаты, представленные в Таблице 47, позволяют установить нормы для золы общей – не более 13 %, и для золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте 10 % – не более 5 %.

7.3. Определение измельчённости и посторонних примесей

Измельчённость анализировали ситовым анализом, используя сита с отверстиями 7 мм и 0,5 мм (Таблица 48).

Таблица 48 – Результаты определения измельчённости ГС №1

Серия	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями 7 мм, %	Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 0,5 мм, %
1	3,42	4,21
2	3,46	4,26
3	3,44	4,25
4	3,48	4,22
5	3,45	4,28
Среднее значение	3,45	4,24

Посторонние примеси (органическую и минеральную) идентифицировали невооружённым глазом и с помощью лупы (увеличение 10х) (Таблица 49).

Таблица 49 – Содержание органической и минеральной примесей в грудном сборе №1

Серия	Органическая примесь, %	Минеральная примесь, %
1	0,56	0,01
2	0,54	0,01
3	0,52	0,01
4	0,55	0,01
5	0,57	0,01
Среднее значение	0,55	0,01

Согласно полученным данным, предлагается установить норму частиц более 7 мм не более 5 %, частиц менее 0,5 мм - не более 5 %. Для органической и минеральной примеси предлагается норма «Не более 1,5 %».

7.4. Количественное определение основных групп биологически активных соединений грудного сбора №1

Одним из важных показателей доброкачественности является количественное содержание групп БАС, оказывающих фармакологический эффект и требующих стандартизации.

Ввиду того, что ГС №1 используется для приготовления настоя не только непосредственно пациентами, но и в аптеках, целесообразно оценивать количество суммы экстрактивных веществ, извлекаемых водой. Данный показатель анализировали в соответствии с ГФ РФ XV OFC «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Результаты определения экстрактивных веществ ГС №1 представлены в Таблице 50.

Таблица 50 – Результаты определения суммы экстрактивных веществ, извлекаемых водой, грудного сбора №1, в пересчёте на сухое сырьё

Серия	Суммарное содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, %
1	29,35
2	26,91
3	28,23
4	26,85
5	27,97
Среднее значение	27,86

Для настоя ГС №1 проведено определение сухого остатка, результаты представлены в Таблице 51.

Таблица 51 – Результаты определения сухого остатка настоя ГС №1

Серия	Сухой остаток, %
1	2,52
2	2,51
3	2,56
4	2,48
5	2,45
Среднее значение	2,50

В ходе анализа ГС №1 было установлено, что суммарное содержание экстрактивных веществ колеблется от 26 до 35 %, следовательно, рекомендованная норма содержания экстрактивных веществ – не менее 25,0 %; для настоя – не менее 1,0 %.

В Таблицах 52-54 представлены результаты количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин и суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу.

Таблица 52 – Результаты определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин в ГС №1, в пересчёте на сухое сырьё

Серия	Сумма флавоноидов в пересчёте на лютеолин, %
1	2,06
2	2,09
3	1,97
4	2,06
5	2,02
Среднее значение	2,04

Таблица 53 – Результаты определения суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в ГС №1 пикриновым методом, в пересчёте на сухое сырьё

Серия	Сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов, %
1	12,82
2	13,71
3	15,68
4	13,28
5	14,62
Среднее значение	14,02

Таблица 54 – Результаты определения суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в ГС №1 антроновым методом, в пересчёте на сухое сырьё

Серия	Сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов, %
1	14,16
2	14,49
3	14,24
4	14,13
5	14,15
Среднее значение	14,23

При анализе образцов ГС №1 установлено, что суммарное содержание флавоноидов находится в пределах от 1,97 до 2,09 %. Рекомендуем установить

норму не менее 1,0 %. Для показателя суммарное содержание суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов рекомендуется установить норму не менее 12 % для обоих методов.

7.5. Анализ стабильности грудного сбора №1

Для установления норм содержания суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов и суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин нами были проведены испытания по изучению стабильности (Таблица 55). Срок годности ГС №1 определён производителями и составляет 3 года.

Таблица 55 – Результаты анализа стабильности ГС №1 в течение срока годности

Серия	Срок хранения	Сумма флавоноидов в пересчёте на лютеолин, %	Сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов, %
1	-	4,06	14,51
	6 мес	3,52	14,46
	1 год	2,95	14,32
	1 год 6 мес	2,49	14,25
	2 года	1,97	14,13
	2 года 6 мес	1,54	13,07
	3 года	1,02	12,95
2	-	4,29	14,55
	6 мес	3,98	14,52
	1 год	3,55	14,48
	1 год 6 мес	3,12	14,43
	2 года	2,58	14,38
	2 года 6 мес	2,06	13,26
	3 года	1,95	12,12
3	-	3,92	14,97
	6 мес	3,42	14,82
	1 год	3,01	14,74
	1 год 6 мес	2,52	14,65
	2 года	2,03	14,57
	2 года 6 мес	1,68	13,49
	3 года	1,12	12,32

Согласно полученным данным, можно рекомендовать установить норму не менее 12 % для показателя «Сумма восстанавливающих сахаров в составе

полисахаридов» и не менее 1,0 % для показателя «Сумма флавоноидов в пересчёте на лютеолин».

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7

1. Уточнены некоторые показатели подлинности и доброкачественности ГС №1: влажность (не более 13,0 %); 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 5,0 %; минеральная и органическая примеси (не более 1,5 %).

2. Подтверждена норма содержания экстрактивных веществ для ГС №1 (не менее 25,0 %), установлена норма сухого остатка для настоя (не менее 1,0 %).

3. При анализе основных групп БАС ГС №1 – флавоноидов и восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов – установлено, что содержание суммы флавоноидов должно составлять не менее 2,0 %, суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов – не менее 12,0 %.

4. На основе изучения ЛРС ГС №1 уточнены характерные внешние и микроскопические признаки, предложены: ТСХ на флавоноиды, качественные реакции на слизь, галактуроновую кислоту, полисахариды. Перечисленные показатели включены в проект нормативной документации на ГС №1 (Приложение А).

5. Проведён анализ стабильности суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов и суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин в ГС №1. Согласно полученным данным, можно рекомендовать установить норму не менее 12 % для показателя «Сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов» и не менее 1,0 % для показателя «Сумма флавоноидов в пересчёте на лютеолин».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совершенствование контроля качества лекарственных растительных препаратов представляет собой актуальную задачу для специалистов здравоохранения. Большая часть рынка ЛРП представляет собой комплексные препараты – лекарственные растительные сборы – которые применяются для комплексного лечения различных заболеваний, в том числе дыхательных путей и бронхолёгочных патологий.

Наиболее популярны в данный момент на рынке Российской Федерации грудные сборы, в частности, грудной сбор №1. Препарат представляет собой комбинацию из трёх видов лекарственного растительного сырья – листьев мать-и-мачехи обыкновенной, корней алтея и травы душицы обыкновенной, и выпускается в форме измельчённого сбора и сбора-порошка, используется пациентами в форме водного извлечения – настоя.

Основной группой биологически активных соединений ГС №1 являются полисахариды. В настоящее время изучению вопроса стандартизации ЛРС и ЛРП – источников полисахаридов – уделено недостаточно внимания.

В данной работе проведены исследования по изучению биологически активных соединений грудного сбора №1 и лекарственного растительного препарата на его основе – настоя, был проанализирован химический состав основных групп БАС, оценка их перехода в настой. Автором получены результаты, подтверждающие наличие большого количества полисахаридов и флавоноидов в сборе, а также других химических веществ. Экспериментально доказано, что основные фармакологически значимые группы БАС переходят в настой в полном объёме в количестве, соответствующем разведению итогового препарата.

Для изучаемого лекарственного растительного препарата в представленной работе разработаны методики оценки подлинности и количественного содержания основных групп БАС – полисахаридов и флавоноидов – с применением

современных физико-химических методов: тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии в УФ и видимой области спектра. Изучен химический состав сбора высокоселективными методами – ИК-спектрометрией, высокоэффективной жидкостной хроматографией и газовой хроматографией с различными типами детектирования, масс-спектрометрией с индуктивно-связанной плазмой и другими.

Полученные данные в ходе исследований легли в основу проекта фармакопейной статьи на ГС №1. Представленная в работе информация может быть использована в качестве основы для разработки оптимальных лекарственных форм грудного сбора №1, настоя на его основе и создания на их базе новых продуктов, а методики контроля качества ГС №1 могут быть рекомендованы к включению в Государственную Фармакопею Российской Федерации.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Выполнено информационно-аналитическое исследование литературных источников, необходимых для разработки современных требований к качеству ГС №1. Подчеркнута актуальность усовершенствования стандартов для ГС №1 и основного лекарственного препарата на его основе – настоя, ориентированных на идентификацию и количественное определение ключевых компонентов.

2. Определены характеристики подлинности (внешних признаков) компонентов и сбора, выпускаемых в пачках и фильтр-пакетах с помощью их рассмотрения невооружённым глазом и при помощи бинокля. Проведён микроскопический анализ компонентов и сбора, выпускаемых в пачках и фильтр-пакетах, определены основные диагностические признаки. Полученные данные позволяют проводить идентификацию компонентов в грудном сборе №1.

3. С помощью фармакопейных и нефармакопейных методик (качественные реакции, ИК-НПВО) были идентифицированы в ГС №1 полисахариды, моносахариды, уроновые кислоты, флавоноиды, дубильные вещества, сапонины, азотсодержащие соединения, жирные кислоты, аминокислоты. Более детально изучены флавоноиды и полисахариды (ТСХ, УЭЖХ-МС).

4. Проведена количественная оценка содержания экстрактивных веществ (ЛРС $27,86 \pm 3,72$ %; настой $2,50 \pm 1,66$ %), суммы полисахаридов (ЛРС $17,57 \pm 2,57$ %; настой $1,76 \pm 2,29$ %), суммы полисахаридов и свободных сахаров в пересчёте на глюкозу (ЛРС $21,75 \pm 1,62$ %; настой $2,19 \pm 0,94$ %), суммы дубильных веществ в пересчёте на танин (ЛРС $5,27 \pm 0,22$ %, настой $0,58 \pm 2,26$ %), суммы органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту (ЛРС $4,24 \pm 0,45$ %, настой $0,43 \pm 3,47$ %). Определено количественное содержание элементов и тяжёлых металлов ГС №1 (превышения норм последних не наблюдалось), а также аминокислот, жирных кислот и летучих органических веществ (компонентов эфирного масла). Выявлено, что основные группы БАС, оказывающие фармакологические эффекты, переходят из ЛРС в настой ГС №1.

5. Разработана и валидирована (по параметрам: линейность, правильность, внутрिलाбораторная прецизионность) спектрофотометрическая методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин ($2,14 \% \pm 0,49 \%$) и суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на глюкозу ($15,17 \pm 0,27 \%$), которая включена в проект ФС (Приложение А).

6. Уточнены показатели качества (влажность, зола общая и т.д.), содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, рекомендованы к включению в проект ФС такие показатели, как количественное содержание суммы восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов, суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин. Предложенные показатели положены в основу проекта ФС на ГС №1 (Приложение А).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные данные в ходе экспериментальных исследований по разработке методик и подходов к стандартизации основных групп БАС ГС №1 могут использоваться в контрольно-аналитических лабораториях для контроля качества ГС №1 и других комплексных лекарственных растительных композиций.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Информация, полученная в рамках данной диссертационной работы, позволяет использовать полученные данные в качестве основы для разработки оптимальных лекарственных форм грудного сбора №1, настоя на его основе и создания на их базе новых продуктов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АО – открытое акционерное общество

БАС – биологически активные соединения

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГЖХ – газожидкостная хроматография

ГКК – гидроксикоричные кислоты

ГС №1 – грудной сбор №1

ГФ РФ – Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV и XV

издания

ЖАК – железоаммонийные квасцы, сульфат железа(III)-аммония

ЗАО – закрытое акционерное общество

ИК-НПВО – инфракрасная спектроскопия нарушенного полного внутреннего отражения

ИСП-МС – масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой

ЛП – лекарственный препарат

ЛРП – лекарственный растительный препарат

ЛРС – лекарственное растительное сырьё

ЛС – лекарственное средство

МИ – молекулярный ион

МС – масс-спектрометрия

НД – нормативная документация

ОФС – общая фармакопейная статья

ПО – программное обеспечение

ПСК – полисахаридный комплекс (ПС 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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алтея корни. Государственный реестр лекарственных средств 2021. [Электронный ресурс]. URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/> (дата обращения: 17.10.2021).
2. Аминокислотный состав грудных сборов № 1 и № 2 и настоев на их основе / В.В. Чевидает, С.Д. Кахраманова, Д.О. Боков [и др.] // Фармация. – 2022. – Т. 71. – № 1. – С. 33-38.
3. Архарова, Л.А. Биологическое обоснование химической борьбы с *Tussilago Farfara* L. (мать-и-мачеха обыкновенная) : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 06.06.01 Биологические науки / Л.А. Архарова ; науч.рук. Т.А. Каспирова ; Всесоюзная ордена Ленина академия сельскохозяйственных наук имени В. И. Ленина; Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений]. – Боровск; Ленинград, 1966. – 26 с.
4. Валидация аналитических методик для производителей лекарств: Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств / Под редакций В.В. Береговых. – Москва : Литтерра, 2008. – 132 с. – ISBN 978-5-98216-12-8. Текст : непосредственный.
5. Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. URL: <http://femb.ru/feml> (дата обращения: 23.05.2023).
6. Государственная фармакопея РФ XV издания : сайт : интернет-версия. – URL: <https://pharmacoregia.regmed.ru/> (дата обращения: 29.07.2023).
7. Государственный реестр лекарственных средств 2021 : сайт : интернет-версия. – URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx> (дата обращения: 10.04.2021).
8. Грудной сбор №1. Государственный реестр лекарственных средств 2021. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=09a01261-dbf3-4d98-89b2-8c34f2c1dc78&t=7 (дата обращения: 30.11.2021).
9. Душицы трава. АО «Красногорсклексредства» // Государственный реестр лекарственных средств 2021. [Электронное издание]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=abb61104-5770-4017-

842b-957e80a9bc47&t= (дата обращения 15.10.2021).

10. Изучение профиля флавоноидов грудного сбора № 1 / С.Д. Кахраманова, Д.О. Боков, М.Н. Родин [и др.] // Известия ГГТУ. Медицина, фармация. – 2020. – № 4. – С. 146-147.

11. Изучение состава растительного лекарственного сбора методом газожидкостной хроматографии с хромато-масс-спектрометрическим детектированием / А.Н. Кузьменко, Е.Б. Пашкова, А.В. Пирогов [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2010. – Т. 51. – № 2. – С. 132-138.

12. Карпук, В.В. Фармакогнозия: учеб. пособие / В.В. Карпук. – Минск : БГУ, 2011. – 340 с. ISBN 978-985-518-430-1. Текст : непосредственный.

13. Кахраманова, С.Д. Определение компонентного состава гидрофильной фракции бас и содержания полисахаридов в грудном сборе №1 и его настое фармакопейными методами / С.Д. Кахраманова, Д.О. Боков, И.А. Самылина // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск: Рекламно-информационное агентство на Кавминводах, – 2020. – Вып. 75. – 332 с.

14. Кахраманова, С.Д. Совершенствование контроля качества грудного сбора №1 / С.Д. Кахраманова, Д.О. Боков, И.А. Самылина // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – Т. 21. – № 2. – С. 177-185.

15. 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.

16. Кацуба, И.К. Исследование летучих веществ листьев и цветков мать-и-мачехи обыкновенной / И.К. Кацуба, В.С. Кисличенко, Е.Н. Новосел // Вестник Таджикского национального университета. Серия естественных наук. – 2013. – № 1-3. – С. 179-183.

17. Куркин, В.А. Метаболиты лекарственных растений как биологически активные соединения / В.А. Куркин // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2016. – Т. 19. – № 2. – С. 15-22.

18. Лекарственные растения. Самая полная энциклопедия / А.Ф. Лебеда, Н.И. Джуренко, А.П. Исайкина, В.Г. Собко ; Москва : АСТ-пресс Книга, 2004. – 912 с. Текст: непосредственный.

19. Мазнев, Н.И. Большая энциклопедия высокоэффективных лекарственных растений / Н.И. Мазнев. – Москва : Эксмо, 2007. – 656 с. Текст: непосредственный.

20. Малинкин, А.Д. Исследование душистых веществ молока различной переработки методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрией с применением твердофазной микроэкстракции – Текст: непосредственный / А.Д. Малинкин, М.А. Макаренко // Материалы II Школы молодых учёных «Основы здорового питания и пути профилактики алиментарно-зависимых заболеваний», Москва, 23-25 октября 2019. – 2019. – С. 59-61.

21. Мать-и-мачехи листья. АО «Красногорсклексредства» // Государственный реестр лекарственных средств 2021. [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=349ca3ac-e906-4eec-8df0-41f86b5589d3&t= (дата обращения 15.04.2021).

22. Моносахаридный состав полисахаридного комплекса листьев мать-и-мачехи / А.П. Корж, А.М. Гурьев, М.В. Белоусов [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т. 10. – № 5. – С. 62-65.

23. Оганесян, К.А. Сравнительный фармакогностический анализ грудных сборов № 1 разных фирм производителей / К.А. Оганесян, В.В. Семьянинова // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2016. – Т. 6. – № 5. – С. 914-914.

24. Определение маркерных соединений для стандартизации лекарственных растительных сборов «Грудной сбор № 1» и «Проктофитол» / И.И. Тернинко, Е.В. Вишняков, М.А. Романова, Ю.Э. Генералова // Формулы Фармации. – 2020. – Т. 2. – № 2. – С. 38-47.

25. Определение содержания уроновых кислот в полисахаридах мать-и-мачехи, клевера, девясила / А.П. Корж, А.М. Гурьев, М.В. Белоусов, М.С. Юсубов // Химия растительного сырья. – 2011. – № 4. – С. 259-264.

26. ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик». Государственная фармакопея РФ XV издания. [Электронное издание]. URL: (дата обращения 22.12.2022).

27. ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. URL: <https://pharmacoregia.regmed.ru/> (дата обращения 23.09.2023).

28. ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. URL: <https://pharmacoregia.regmed.ru/> (дата обращения 25.09.2023).

29. ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», метод 1. Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. URL: <https://pharmacoregia.regmed.ru/> (дата обращения 25.09.2023).

30. ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. URL: <https://pharmacoregia.regmed.ru/> (дата обращения 25.09.2023).

31. ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», метод 1. Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. URL: <https://pharmacoregia.regmed.ru/> (дата обращения 25.09.2023).

32. ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Государственная фармакопея РФ XV изд. [Электронное издание]. URL: <https://pharmacoregia.regmed.ru/> (дата обращения 26.10.2023).

33. Пептид-полисахаридные комплексы слизей ламинарии, корня алтея, семян льна / А.П. Нечипоренко, И.Э. Миневич, У.Ю. Нечипоренко [и др.] // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». – 2020. – № 1 (43). – С. 3-17.

34. Полле, А.Я. Выделение и общая характеристика полисахаридов из

пижмы обыкновенной, мать-и-мачехи и лопуха войлочного / А.Я. Полле, Р.Г. Оводова, С.В. Попов // Химия растительного сырья. – 1999. – № 1. – С. 27-32.

35. Пospelова, А.А. Определение основных групп биологически активных веществ душицы обыкновенной травы в составе различных товаров аптечного ассортимента методом тонкослойной хроматографии / А.А. Пospelова, Л.Н. Карпова, А.С. Дегтярева // Вестник пермской государственной фармацевтической академии. Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Кромеровские чтения 2021» : сборник материалов. – Пермь: ПГФА, 2021. – № 26. – С. 221-224.

36. Российская Федерация. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 22.05.2023 № 249н / Официальный интернет-портал правовой информации : офиц. сайт – URL. <http://publication.pravo.gov.ru/document/0001202305300017> (дата обращения 21.10.2023).

37. Руководство Р. 4.1. 1672-03 «Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище» // Минздрав России. – Москва : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 240 с. Текст : непосредственный.

38. Сафонов, Н.Н. Полный атлас лекарственных растений / Н.Н. Сафонов ; Москва : Эксмо, 2009. – 312 с. ; ISBN: 978-5-699-10346-1. – Текст : непосредственный.

39. Состав водорастворимых полисахаридов из цветков *Calendula officinalis* L. / А.П. Корж, А.М. Гурьев, М.В. Белоусов [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2012. – Т. 46. – № 4. – С. 23-25.

40. Фармакогнозия. Атлас в 3-х томах / И.А. Самылина, В.А. Ермакова, Н.В. Бобкова, О.Г. Аносова. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2009. – Т.1. – 192 с. Текст : непосредственный.

41. Фармакогнозия. Атлас в 3-х томах/ И.А. Самылина, В.А. Ермакова, Н.В. Бобкова, О.Г. Аносова. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2009. – Т.2. – 384 с. Текст : непосредственный.

42. Фракционный состав и химическая структура биологически активных растительных полисахаридов / А.П. Корж, А.М. Гурьев, М.В. Белоусов [и др.] // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2011. – Т. 3. – № 1. – С. 63-64.

43. Фракционный состав эфирного масла душицы обыкновенной Красноярского края / А.А. Алякин, А.А. Ефремов, С.В. Качин, О.О. Данилова // Химия растительного сырья. – 2010. – № 1. – С. 99-104.

44. ФС.2.5.0001.15 «Алтея корни». Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. URL: <http://femb.ru/feml> (дата обращения 23.05.2023).

45. ФС.2.5.0012.15 «Душицы обыкновенной трава». Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. URL: <http://femb.ru/feml> (дата обращения 23.05.2023).

46. 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).

47. 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).

48. ФС.2.5.0093.18 «Рябины обыкновенной плоды». Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. URL: <http://femb.ru/feml> (дата обращения 23.05.2023).

49. Элементный состав грудного сбора № 1 и его компонентов / С.Д. Кахраманова, Д.О. Боков, И.В. Гравель, И.А. Самылина // Фармация. – 2022. – Т. 71. – № 8. – С. 21-27.

50. Al-Snafi, A.E. The pharmaceutical importance of *Althaea officinalis* and *Althaea rosea*: A review / A.E. Al-Snafi // International Journal of PharmTech Research. – 2013. – Vol. 5. – № 3. – P. 1387-1385.

51. Al-Zaidan, S.A.A.H. Studying the antioxidant activity of oregano and maui rose powders and their effect on lipid oxidation indicators of cold-preserved beef luncheon / S.A.A.H. Al-Zaidan, K.S.J. Al-Hussainy // British Journal of Global Ecology

and Sustainable Development. – 2023. – Vol. 13. – P. 87-100.

52. Antibacterial activity of oregano essential oils against *Streptococcus mutans* in vitro and analysis of active components / Y. Yuan, J. Sun, Y. Song, R.N. Raka [et al.] // BMC Complementary Medicine and Therapies. – 2023. – Vol. 23. – № 1. – P. 61.

53. Antibacterial effects of different concentrations of *Althaea officinalis* root extract versus 0.2% chlorhexidine and penicillin on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* (in vitro) / R. Haghgoo, M. Mehran, E. Afshari [et al.] // Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry. – 2017. – Vol. 7. – № 4. – P. 180.

54. Antibacterial Potential of Chitosan Scaffolds Incorporated with Oregano and Thyme Essential Oils against *Escherichia coli* / J.L.M. Torres, S. de Lima Silva, M.A.A. de Medeiros [et al.] // European Journal of Medical and Health Sciences. – 2023. – Vol. 5. – № 6. – P. 28-32.

55. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of Phytohustil® and root extract of *Althaea officinalis* L. on macrophages in vitro / G.A. Bonaterra, K. Bronischewski, P. Hunold [et al.] // Frontiers in pharmacology. – 2020. – Vol. 11. – P. 290.

56. Antimicrobial action of Oregano, Thyme, Clove, Cinnamon and Black pepper essential oils free and encapsulated against foodborne pathogens / J.M. de Almeida, B.L. Crippa, V.V.M.A. de Souza [et al.] // Food Control. – 2023. – Vol. 144. – P. 109356.

57. Antiproliferative Effect of Essential Oil Obtained from Oregano (*Lippia palmeri* S. Watson) Leaves Grown in Hydroponics and LED Light / B.F. Bringas-Burgos, K.G. Martínez-Robinson, Y. Toledano-Magaña [et al.] // Chemistry & Biodiversity. – 2023. – Vol. 20. – № 4. – P. e202201076.

58. Aqueous extracts and polysaccharides from Marshmallow roots (*Althaea officinalis* L.): Cellular internalisation and stimulation of cell physiology of human epithelial cells in vitro / A. Deters, J. Zippel, N. Hellenbrand [et al.] // Journal of ethnopharmacology. – 2010. – Vol. 127. – № 1. – P. 62-69.

59. Asqarov, I. Chemical composition of gulkyri (*Althaea officinalis* L.) plant, element analysis of gulkyri oil and its significance in folk medicine / I. Asqarov, M.

Mo'minov, X. Umidjon // Scientific journal of the Fergana State University. – 2023. – № 1. – P. 129-129.

60. Capek, P. Polysaccharides from the roots of the marshmallow (*Althaea officinalis* L., var. *Rhobusta*): Structural features of an acidic polysaccharide / P. Capek, J. Rosík, A. Kardošova // Carbohydrate Research. – 1987. – Vol. 164. – P. 443-452.

61. Chanaj-Kaczmarek, J. Phenolics in the *Tussilago farfara* leaves / J. Chanaj-Kaczmarek, M. Wojcińska, I. Matławska // Herba polonica. – 2013. – Vol. 59. – № 1. – P. 35-43.

62. Characterization of phenolic composition in *Lamiaceae* spices by LC-ESI-MS/MS / M.B. Hossain, D.K. Rai, N.P. Brunton [et al.] // Journal of agricultural and food chemistry. – 2010. – Vol. 58. – № 19. – P. 10576-10581.

63. Chemical characterization and in vitro biological evaluation of aqueous extract of *Althaea officinalis* L. flower grown in Lebanon / C. Farhat, H. Younes, O.A. Alyamani [et al.] // Journal of Herbal Medicine. – 2022. – Vol. 34. – P. 100575.

64. Chemical composition and antibacterial activity of *Tussilago farfara* L. essential oil from Quebec, Canada / M.A. Boucher, H. Côté, A. Pichette [et al.] // Natural product research. – 2020. – Vol. 34. – № 4. – P. 545-548.

65. Chemical composition and antioxidant activities of essential oils from different parts of the oregano / F. Han, G.Q. Ma, M. Yang [et al.] // Journal of Zhejiang University. Science. B. – 2017. – Vol. 18. – № 1. – P. 79.

66. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activity of Oregano essential oil / M. Walasek-Janusz, A. Grzegorzczak, A. Malm [et al.] // Molecules. – 2024. – Vol. 29. – № 2. – P. 435.

67. 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.

68. Development and Evaluation of Vaginal Suppository Containing *Althaea officinalis* L. Polysaccharide Extract / M. Abbaspour, H. Hoseini, Z. Sobhani [et al.] // Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2023. – Vol. 58.

69. Diuretic and neurotropic activity of Oreganol A, a component of Oregano /

V.A. Kurkin, E.N. Zaitceva, A.S. Tsibina [et al.] // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2023. – Vol. 56. – № 10. – P. 1344-1347.

70. Essential oil of oregano and savory: Chemical composition and antimicrobial activity / O.E. Özkan, K. Güney, M. Gür [et al.] // *Indian J Pharm Educ Res*. – 2017. – Vol. 51. – № 3. – P. S205-S208.

71. European Pharmacopoeia 10.0 edition. [Электронный ресурс]. // EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare). Доступ по подписке. URL: <http://online.edqm.eu/entry.htm> (дата обращения: 26.08.2023)

72. Evaluating Antibacterial Effects of Alcoholic Extracts and Essential Oil of *Althaea officinalis* Against Two Types of Gram-positive and Gram-negative Bacteria (*Bacillus cereus* and *Klebsiella pneumonia*) / M. Arab, N. Arab, D. Kahrizi [et al.] // *Journal of Medicinal plants and By-product*. – 2023. – Vol. 12. – № 1. – P. 107-115.

73. Fink, C. Marshmallow root extract for the treatment of irritative cough: two surveys on users' view on effectiveness and tolerability / C. Fink, M. Schmidt, K. Kraft // *Complementary Medicine Research*. – 2018. – Vol. 25. – № 5. – P. 299-305.

74. Flavonoids and phenolic acids from oregano: Occurrence, biological activity and health benefits / E.P. Gutiérrez-Grijalva, M.A. Picos-Salas, N. Leyva-López [et al.] // *Plants*. – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 2.

75. FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses / M. Kacurakova, P. Capek, V. Sasinkova [et al.] // *Carbohydrate polymers*. – 2000. – Vol. 43. – № 2. – P. 195-203.

76. Gastro-protective and anti-oxidant potential of *Althaea officinalis* and *Solanum nigrum* on pyloric ligation/indomethacin-induced ulceration in rats / S.S. Zaghlool, A.A. Abo Seif, M.A. Rabeh [et al.] // *Antioxidants*. – 2019. – Vol. 8. – № 11. – P. 512.

77. Ghédira, K. Tussilage: *Tussilago farfara* L. (*Asteraceae*) / K. Ghédira, P. Goetz // *Phytothérapie*. – 2015. – Vol. 13. – P. 406-409.

78. Gudej, J. Flavonoid compounds of *Althaea officinalis* leaves. I. Glucoside esters, monoglucosides / J. Gudej // *Acta Poloniae Pharmaceutica*. – 1985. – Vol. 42. – P. 192-198.

79. Gudej, J. Flavonoids, phenolic acids and coumarins from the roots of *Althaea officinalis* / J. Gudej // *Planta medica*. – 1991. – Vol. 57. – № 03. – P. 284-285.
80. Haaland, E. Water-soluble polysaccharides from the leaves of *Tussilago farfara* L / E. Haaland // *L. Acta Chemica Scandinavica*. – 1969. – Vol. 23. – № 7. – P. 2546-8.
81. Kadhum, H.H. HPLC analysis and chemical composition identification of isolated flavonoid fraction of *Althaea officinalis* from Iraq / H.H. Kadhum, A.H. Abd, A.M. Al-Shammari // *AIP Conference Proceedings*. – AIP Publishing LLC, 2019. – Vol. 2123. – № 1. – P. 020045.
82. Khan, N.T. Pharmacological Importance of Sage and Oregano / N.T. Khan // *Journal of Advanced Pharmaceutical Science and Technology*. – 2020. – Vol. 2. – № 2. – P. 13-17.
83. LC-MS method for the simultaneous quantitation of the anti-inflammatory constituents in oregano (*Origanum* species) / D. Shen, M.H. Pan, Q.L. Wu [et al.] // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2010. – Vol. 58. – № 12. – P. 7119-7125.
84. Lipman, A.G. Dietary Supplements: A Call to Action / A.G. Lipman // *Journal of pain & palliative care pharmacotherapy*. – 2010. – Vol. 24. – №. 4 – P. 330-332.
85. Mahdi, V. Chemical composition and antimicrobial activity of the flower and root hexane extracts of *Althaea officinalis* in Northwest Iran / V. Mahdi, S. Ali, S. Farshid // *Journal of Medicinal Plants Research*. – 2011. – Vol. 5. – № 32. – P. 6972-6976.
86. Mancini-Filho, J. History: Painted pictures of coltsfoot leaves were used as a sign / J. Mancini-Filho // *Herbal Therapy and Supplements: A Scientific and Traditional Approach*. – 2000. – P. 101.
87. 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.
88. Nedelcheva, A. Pyrrolizidine alkaloids in *Tussilago farfara* from Bulgaria / A. Nedelcheva, N. Kostova, A. Sidjimov // *Biotechnology & Biotechnological*

Equipment. – 2015. – Vol. 29. – № sup1. – P. S1-S7. DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1047149> 67

89. Nedelcheva, A. Pyrrolizidine alkaloids in *Tussilago farfara* from Bulgaria / A. Nedelcheva, N. Kostova, A. Sidjimov // Biotechnology & Biotechnological Equipment. – 2015. – Vol. 29. – № sup1. – P. S1-S7.

90. Olennikov, D.N. Lamiaceae carbohydrates. III. Water-soluble polysaccharides from *Origanum vulgare* / D.N. Olennikov, L.M. Tankhaeva // Chemistry of natural compounds. – 2008. – Vol. 44. – P. 630-631.

91. Oregano as a potential source of antidiabetic agents / E.P. Gutiérrez-Grijalva, N. Leyva-López, G. Vazquez-Olivo [et al.] // Journal of Food Biochemistry. – 2022. – Vol. 46. – № 12. – P. e14388.

92. Özdemir, F.A., Investigation of antimicrobial and anticancer activity of extracts obtained following UV application to *Althaea officinalis* L. callus cultures / F.A. Özdemir, M. Turan // International Journal of Secondary Metabolite. – 2023. – Vol. 10. – № 3. – P. 425-436.

93. Pharmacological activity of *Althaea officinalis* L / S.A. Shah, N. Akhtar, M. Akram [et al.] // J Med Plants Res. – 2011. – Vol. 5. – № 24. – P. 5662-5666.

94. Phenolic compounds from *Origanum vulgare* and their antioxidant and antiviral activities / X.L. Zhang, Y.S. Guo, C.H. Wang [et al.] // Food chemistry. – 2014. – Vol. 152. – P. 300-306.

95. Phytochemical and pharmacological research progress in *Tussilago farfara* / K.Y. Liu, T.J. Zhang, W.Y. Gao [et al.] // China Journal of Chinese Materia Medica. – 2006. – Vol. 31. – № 22. – P. 1837-1841.

96. Polysaccharide extracted from *Althaea officinalis* L. root: New studies of structural, rheological and antioxidant properties / S. Karimi, B. Ghanbarzadeh, L. Roufegarinejad [et al.] // Carbohydrate Research. – 2021. – Vol. 510. – P. 108438.

97. Polysaccharides from the roots of *Althaea officinalis* L.: Structural features of D-glucans / P. Capek, R. Toman, J. Rosík [et al.] // Collection of Czechoslovak chemical communications. – 1984. – Vol. 49. – № 11. – P. 2674-2679.

98. Polysaccharides from the roots of the marshmallow (*Althaea officinalis* L.):

structure of an arabinan / P. Capek, R. Toman, A. Kardošová [et al.] // Carbohydrate Research. – 1983. – Vol. 117. – P. 133-140.

99. Protective effects of ginger and marshmallow extracts on indomethacin-induced peptic ulcer in rats / S.S. Zaghlool, B.A. Shehata, A.A. Abo-Seif [et al.] // Journal of natural science, biology, and medicine. – 2015. – Vol. 6. – № 2. – P. 421.

100. Roundtable Discussion: Consumer Reports Cover Story on Dangerous Dietary Supplements: A Missed Opportunity to Highlight Supplement Successes / M. Blumenthal, D.V. Awang, R. Kingston [et al.] // Alternative and Complementary Therapies. – 2010. – Vol. 16. – № 6. – P. 324-333.

101. Shahsavari, S. Extraction and Identification of Compounds of *Althaea officinalis* L. and *Anchusa italica* Retz. Native to Ilam Province by Using HS-SPME, GC-MS, and FTIR, and Study of Their Antioxidant Capacity / S. Shahsavari, Z. Derikvand // Progress in Chemical and Biochemical Research. – 2022. – Vol. 5. – № 4. – P. 338-350.

102. Spatial variability and climate response characteristics of chemical components of *Tussilago farfara* L / G.Z. Wan, Z.H. Guo, S.Y. Xi [et al.] // Industrial Crops and Products. – 2023. – Vol. 204. – P. 117352.

103. The efficacy of complementary treatment with marshmallow (*Althaea officinalis* L.) on vulvovaginal candidiasis: a randomized double-blinded controlled clinical trial / F. Amini, F. Namjooyan, K. Zomorodian [et al.] // Explore. – 2023. – Vol. 19. – № 6. – C. 813-819.

104. Two new flavonoids from *Origanum vulgare* / U.W. Hawas, S.K. El-Desoky, S.A. Kawashty [et al.] // Natural Product Research. – 2008. – Vol. 22. – № 17. – P. 1540-1543.

105. Ultrasound-assisted extraction of total phenolic compounds and antioxidant activity evaluation from Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) using response surface methodology and identification of specific phenolic compounds with HPLC-PDA and Q-TOF-MS/MS / A. Michalaki, H.C. Karantonis, A.S. Kritikou [et al.] // Molecules. – 2023. – Vol. 28. – № 5. – P. 2033.

106. United States Pharmacopeia 42th edition. [Электронный ресурс]. // United

States Pharmacopeial Convention. Доступ по подписке. URL: <http://www.uspnf.com/uspnf/login> (дата обращения: 26.08.2023).

107. Valiei, M., Chemical composition and antimicrobial activity of the flower and root hexane extracts of *Althaea officinalis* in Northwest Iran / M. Valiei, A. Shafaghat, F. Salimi // Journal of medicinal plants research. – 2011. – Vol. 5. – № 32. – P. 6972-6976.

108. Variability of Flavonoid Content, Reducing and Antioxidant Activity in *Althaea officinalis* L. Hairy Roots / T. Bohdanovych, V. Belokurova, N. Matvieieva // Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality. – 2023. – Vol. 7. – № 2. – P. 181-188.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Грудной сбор № 1 для приготовления
настоя

ФС

Взамен ФС 42-1030-99

Настоящая фармакопейная статья распространяется на сбор, состоящий из корней алтея лекарственного - *Althaea officinalis* L. и алтея армянского - *Althaea armeniaca* Ten., сем. мальвовых – *Malvaceae*; душицы обыкновенной травы - *Origanum vulgare* L., сем. яснотковых – *Lamiaceae*; мать-и-мачехи обыкновенной листьев - *Tussilago farfara* L., сем. астровых - *Asteraceae*, применяемый в качестве лекарственного растительный препарата.

Состав:

Алтея корни	40 %
Душицы обыкновенной трава	20 %
Мать-и-мачехи обыкновенной листья	40 %

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. Сбор измельченный, сбор-порошок. Смесь неоднородных кусочков растительного сырья белого, серовато-белого, зеленовато-серого, серовато-зеленого, зеленовато-коричневого, коричневого и фиолетового цвета, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

При исследовании с помощью лупы или стереомикроскопа должны быть видны:

– кусочки волокнистых корней различной формы белого, желтовато-белого

или серовато-белого цвета с остатками коричневой пробки (алтея корни);

– кусочки стеблей зеленых, коричневато-зеленых или светло-коричневых, часто с фиолетовым оттенком, нередко продольно-расщепленных с беловатой губчатой сердцевинкой; кусочки зеленых листьев с блестящими коричневатыми точками (погруженные железки) и белесыми волосками; цельные зеленовато-фиолетовые или фиолетовые чашечки или их кусочки с железками и редкими волосками снаружи и длинными белесыми волосками на уровне зубцов с внутренней стороны; кусочки коричневого или коричневато-розового венчика с белесыми волосками; мелкие округлые коричневые или светло-коричневые семена (душицы обыкновенной трава);

– 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 беловойлочко-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).

Запах слабый, характерный.

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

– фрагменты пробки, часто с друзами оксалата кальция, фрагменты паренхимы с друзами оксалата кальция, фрагменты паренхимы с частично клейстеризованными крахмальными зернами, фрагменты паренхимы с клетками со слизью, группы лубяных волокон со слабо утолщенными неодревесневшими стенками с заостренными, реже вилообразно разветвленными концами, фрагменты сетчатых и лестничных сосудов. Крахмальные зерна простые округлые или овальные, редко встречаются 2-5-сложные (алтея корни, Рисунки А.1-А.3);

– клетки эпидермиса верхней стороны листа со слабоизвилистыми

стенками, нижней стороны листа - с более извилистыми стенками; стенки клеток нередко четковидноутолщенные. Устьица на обеих сторонах листа окружены 2 клетками эпидермиса, смежные стенки которых расположены перпендикулярно устьичной щели (диацидный тип). Волоски 2 типов (простые и головчатые) расположены по всей пластинке листа, в большем количестве - на нижней его стороне. Простые волоски, главным образом, многоклеточные, с бородавчатой поверхностью и утолщенными стенками (у крупных волосков часто одна или более клеток спавшиеся); головчатые волоски на одноклеточной ножке с овальной одноклеточной головкой. Округлые эфирномасличные железки, у которых можно иногда видеть 8 радиально расположенных выделительных клеток, преобладают на нижней стороне листа и находятся в углублении ниже уровня эпидермиса (погруженные), у места прикрепления железки эпидермальные клетки образуют розетку, как правило, из 10-16 клеток. Клетки эпидермиса стебля почти многоугольные, вытянутые, волоски и устьица характерного строения, железки мелкие, редко встречаются ветвистые многоклеточные волоски. Эпидермис наружной поверхности чашечки с редкими устьицами, многочисленными простыми 2-3-клеточными волосками и крупными железками; с внутренней стороны чашечки клетки эпидермиса сильноизвилистые с хорошо заметной складчатостью кутикулы, по всей поверхности - мелкие головчатые волоски, по линии вдоль оснований зубцов расположены длинные многоклеточные волоски с бородавчатой кутикулой; в нижней части чашечки видны сосудистые пучки, окруженные пористыми толстостенными одревесневшими склеренхимными волокнами. Клетки эпидермиса венчика с наружной стороны извилистые, на лопастях видны многоклеточные волоски и редкие непогруженные железки; с внутренней стороны лопасти покрыты сосочковидными выростами, среди которых иногда встречаются пальцевидные волоски со штриховатой кутикулой, в средней трети венчика эти волоски многочисленные. В покровной ткани пыльников видны клетки с лучистым утолщением стенок; пыльцевые зерна - сферические, со слегка бородавчатой экзиной и 6 порами (душицы обыкновенной трава, Рисунки А.4-А.5);

– крупные многоугольные клетки эпидермиса верхней стороны листовой пластинки с прямыми или четковидноутолщенными 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, Рисунки А.6-А.8).

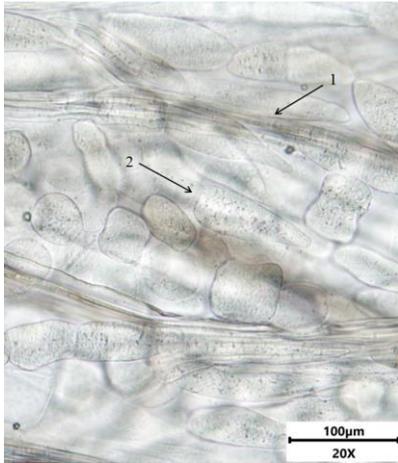


Рисунок А.1 – Фрагмент корня алтея (200х): 1 – группы волокон; 2 – клетки паренхимы с частично клейстеризованными крахмальными зёрнами



Рисунок А.2 – Фрагмент корня алтея (200х): 1 – клетки паренхимы с друзами оксалата кальция, 2 – группы волокон, 3 – клетки паренхимы с частично клейстеризованными крахмальными зёрнами

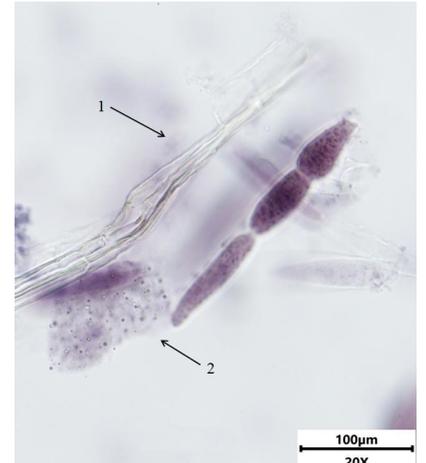


Рисунок А.3 – Корень алтея после проведения гистохимической реакции на крахмал (200х): 1 – группы волокон, 2 – клетки паренхимы с частично клейстеризованными крахмальными зёрнами, окрашенными в фиолетовый цвет

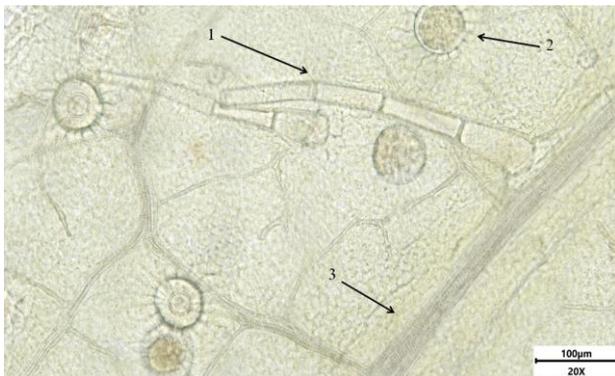


Рисунок А.4 – Фрагмент листа душицы обыкновенной (200х): 1 – простые волоски многоклеточные с утолщённой стенкой, 2 – эфирномасличные желёзки, 3 – сосуды

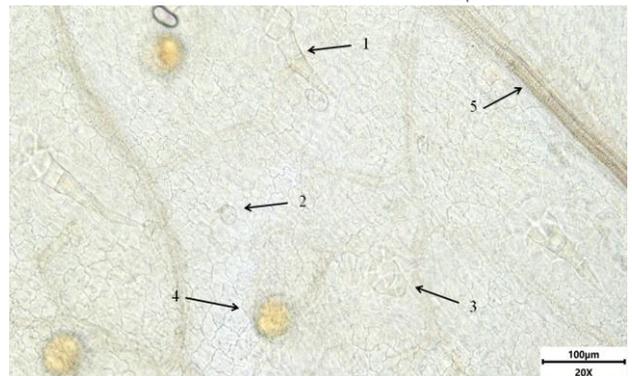


Рисунок А.5 – Фрагмент листа душицы обыкновенной (200х): 1 – простые волоски, 2 – головчатые волоски на одноклеточной ножке с одноклеточной головкой, 3 – место прикрепления простого волоска, 4 – эфирномасличные желёзки, 5 – сосуды

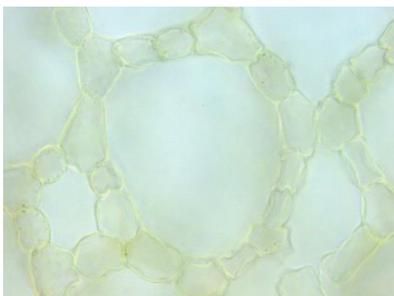


Рисунок А.6 – Фрагмент аэренхимы листа мать-и-мачехи, 100х.



Рисунок А.7 – Фрагмент нижнего эпидермиса листа мать-и-мачехи, 100х.

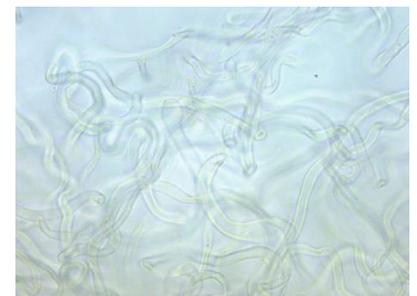


Рисунок А.8 – Фрагмент простых шнуровидных волосков листа мать-и-мачехи, 100х

Определение основных групп биологически активных веществ

Аналитическую пробу препарата измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм.

Тонкослойная хроматография

Пластинка. ТСХ пластинка со слоем силикагеля F₂₅₄.

Подвижная фаза (ПФ). Тoluол–этилацетат–муравьиная кислота–вода 10:20:5:2.

Раствор стандартного образца (СО) 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.

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 (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 20 мкл испытуемого раствора и 5 мкл раствора СО рутина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру (выложенную изнутри фильтровальной бумагой), предварительно насыщенную в течение не менее 30 мин ПФ, и хроматографируют восходящим способом.

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

На хроматограмме раствора СО рутина должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: две зоны адсорбции с флуоресценцией от желтого до коричневатого-желтого цвета выше зоны адсорбции СО рутина, над ним две зоны адсорбции с флуоресценцией голубого цвета, над которыми располагаются две зоны адсорбции синего цвета (флавоноиды); допускается обнаружение других зон адсорбции.

Качественные реакции.

1. При смачивании кусочков корней алтея аммиака раствором 10 % или натрия гидроксида раствором 10 % должно наблюдаться желтое окрашивание (слизь).

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. *Измельченный сбор* – не более 13 %.

Зола общая. *Измельченный сбор* – не более 13 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Измельченный сбор* – не более 5 %.

Измельченность. *Измельченный сбор*: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, – не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,2 мм, – не более 5 %.

Посторонние примеси

Органическая примесь. *Измельченный сбор* – не более 1,5 %.

Минеральная примесь. *Измельченный сбор* – не более 1,5 %.

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

Тяжелые металлы и мышьяк. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном

растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

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

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

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

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

Количественное определение

1. Сумма восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов – *измельченный сбор, сбор порошок* – не менее 10%. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрометрия в видимой и ультрафиолетовой области спектра»).

Антрагон-сернистый реактив. В мерную колбу вместимостью 100 мл 0,20 г антрагона, 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.

Испытуемый раствор. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито 2 мм. В коническую колбу помещают 2,0 г (точная навеска) измельченного сырья, добавляют 30 мл воды, доведенной 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.

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.

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 стандартного образца глюкозы. Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца глюкозы (в пересчете на безводную) 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 625 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Суммарное содержание восстанавливающих сахаров в составе полисахаридов в пересчёте на абсолютно сухое сырьё в процентах (X) вычисляют по формуле:

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

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, %.

2. Сумма флавоноидов в пересчёте на лютеолин – *измельчённый сбор, сбор порошок* – не менее 3%. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в видимой и ультрафиолетовой области спектра»).

Испытуемый раствор. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. В коническую колбу со шлифом помещают около 2,0 г (точная навеска) измельчённого сырья и прибавляют 50 мл спирта 70 %. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Горячее извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. В колбу для экстрагирования прибавляют 50 мл спирта 70 % и повторяют экстракцию в описанных выше условиях, фильтруют извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объём извлечения доводят спиртом 70 % до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2 мл полученного раствора, прибавляют 3 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 %, 0,1 мл уксусной кислоты разведённой 30 %, доводят объём раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают.

Раствор стандартного образца лютеолина. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 10 мг (точная навеска) стандартного образца лютеолина, предварительно высушенного при температуре 130–135 °С в течение 3 ч, растворяют в 25 мл спирта 96 % при нагревании на водяной бане, охлаждают до комнатной температуры, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 мл полученного раствора, прибавляют 3 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 % и 0,1 мл уксусной кислоты концентрированной, доводят раствор до метки спиртом 96 % и перемешивают.

Измеряют через 40 мин оптическую плотность испытуемого раствора и раствора стандартного образца лютеолина на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 400 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл испытуемого раствора, 0,1 мл уксусной кислоты разведённой 30 %, доведённый до метки в мерной колбе 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин и абсолютно сухое сырьё в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot 100 \cdot 25 \cdot 2 \cdot 100}{A_0 \cdot a_1 \cdot 50 \cdot 2 \cdot 25 \cdot (100 - W) \cdot 100'}$$

где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца лютеолина;

a_1 – навеска сырья, мг;

a_0 – навеска стандартного образца лютеолина, мг;

W – влажность сырья, %

P – содержание лютеолина в стандартном образце лютеолина, %.

Допускается содержания суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин вычислять с использованием удельного показателя поглощения комплекса лютеолина с алюминия хлоридом.

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{549 \cdot 2 \cdot (100 - W)} = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 125000}{549 \cdot (100 - W)'}$$

где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора;

549 – удельный показатель поглощения комплекса лютеолина с алюминия хлоридом при длине волны 400 нм;

a_1 – навеска сырья, мг;

W – влажность сырья, %

3. Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой – *сбор измельчённый, сбор-порошок* – не менее 25 %.

Определение экстрактивных веществ, извлекаемых водой, проводят в соответствии с требованиями 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 транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

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

*Контроль по показателю качества «Остаточные количества пестицидов» проводят на стадии производственного процесса.

Аспирант
кафедры фармацевтического
естествознания

С.Д. Кахраманова

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

Д.О. Боков

ПРИЛОЖЕНИЕ Б



АКТ 318

о внедрении результатов диссертации Кахрамановой Сабины Джейхуновны 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 научно-исследовательской работы Кахрамановой Сабины Джейхуновны на тему «Изучение состава биологически активных соединений грудного сбора № 1 и лекарственного растительного препарата на его основе» внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания при изучении дисциплины фармакогнозия и используются при проведении практических занятий в рамках образовательной программы школы мастерства «Современные методы микроскопического и фитохимического анализа ЛРС и препаратов на его основе» по направлению подготовки 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.

Начальник Учебного управления

Юдина Л.Ю.