ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ШМЫГАРЕВА АННА АНАТОЛЬЕВНА

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ФАРМАКОПЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ АНТРАГЛИКОЗИДЫ

14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
доктора фармацевтических наук

Научный консультант
Куркин Владимир Александрович
доктор фармацевтических наук,
профессор

Самара – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение……..		8
Глава 1	**СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ФАРМАКОПЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ** (Обзор литературы)……	22
1.1.	Распространение антраценпроизводных в фармакопейных растениях……	24
1.2.	Современные проблемы стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные…...	26
1.3.	Методы выделения антраценпроизводных из лекарственного растительного сырья ……..	33
1.4.	Методы, используемые для установления строения и идентификации антраценпроизводных……...	34
1.4.1.	Методы химической трансформации антраценпроизводных…	34
1.4.1.1.	Кислотный гидролиз……..	34
1.4.1.2.	Ступенчатый кислотный гидролиз……...	35
1.4.1.2.	Ферментативный гидролиз……	35
1.4.2.	Спектральные методы, используемые для исследования антраценпроизводных и лекарственного растительного сырья.	35
1.4.2.1.	УФ-спектроскопия…….	36
1.4.2.2.	ИК-спектроскопия…….	38
1.4.2.3.	ЯМР-спектроскопия……..	39
1.4.2.4.	Масс-спектрометрия……..	40
1.5.	Хроматографические методы, используемые в исследовании и анализе лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные……	41
1.5.1.	Тонкослойная хроматография……..	42
1.5.2.	Колоночная хроматография…….	45
1.5.3.	Хроматография на бумаге…….	46
1.5.4.	Высокоэффективная жидкостная хроматография……..	48
1.6.	Фармакологические свойства антраценпроизводных фармакопейных растений……..	50
1.6.1.	Ограничения и противопоказания к применению препаратов, содержащих антрахиноны…….	55
Выводы к главе 1……		56
Глава 2.	**ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**……	58
2.1.	Объекты исследования……..	58
2.2.	Методы исследования……	61
2.2.1.	Анатомо-морфологическое исследование некоторых видов фармакопейного сырья антраценсодержащих растений……	61
2.2.2.	Химические методы……...	63
2.2.2.1.	Качественные реакции……...	63

2.2.2.2.	Кислотный гидролиз……..	64
2.2.2.3.	Ферментативный гидролиз……	64
2.2.3.	Хроматографические методы……	65
2.2.3.1.	Тонкослойная хроматография (ТСХ)……...	65
2.2.3.2.	Бумажная хроматография (БХ)…….	66
2.2.3.3.	Колоночная хроматография (КХ)……	66
2.2.3.4.	Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)…..	67
2.2.4.	Спектральные методы……..	68
2.2.4.1.	Метод УФ-спектроскопии…….	68
2.2.4.2.	^{1}Н-ЯМР-и ^{13}С-ЯМР-спектроскопия……..	69
2.2.4.3.	Масс-спектрометрия……..	69
2.2.5.	Методы получения экстракционных лекарственных препаратов……...	69
2.2.5.1.	Метод мацерации……	70
2.2.5.2.	Метод перколяции……..	70
2.2.5.3.	Метод модифицированной мацерации…….	71
2.2.6.	Фармакологические методы……..	71
2.2.6.1.	Изучение слабительного действия……	71
Глава 3.	**МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОПЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ……...**	73
3.1.	Ботаническое описание сенны александрийской (*Senna alexandrina* Mill)……..	74
3.1.1.	Ботаническая характеристика видов рода Сенна……..	74
3.1.2.	Анатомо-гистологическое исследование строения листьев сенны александрийской…….	75
3.1.3.	Анатомо-гистологическое исследование строения плодов сенны александрийской……	78
3.1.3.1.	Анатомо-гистологическое исследование створок боба сенны александрийской…….	79
3.1.3.2.	Анатомо-гистологическое исследование плодоножек боба…..	82
3.1.3.3.	Анатомо-гистологическое исследование семени боба сенны…	83
3.2.	Марена красильная (*Rubia tinctorum* L.)……..	86
3.2.1.	Ботаническое описание марены красильной и марены грузинской……...	86
3.2.2.	Ботаническая характеристика видов рода Марена…….	87
3.2.3.	Анатомо-гистологическое исследование корня марены красильной……..	88
3.3.	Ревень тангутский (*Rheum palmatum* L.)……..	91
3.3.1.	Ботаническое описание ревня тангутского……..	91
3.3.2.	Ботаническая характеристика видов рода Ревень……..	92
3.3.3.	Анатомо-гистологическое исследование корня ревеня тангутского…….	92

3.4.	Алоэ древовидное (*Aloe arborescens* Mill.)……..	97
3.4.1.	Ботаническое описание алоэ древовидного……	97
3.4.2.	Ботаническая характеристика видов рода Алоэ…….	97
3.4.3.	Анатомо-гистологическое исследование листьев и побегов алоэ древовидного…….	100
3.5.	Крушина ломкая (*Frangula alnus* Mill.)……	104
3.5.1.	Ботаническое описание крушины ломкой……..	104
3.5.2.	Ботаническая характеристика видов рода Крушина……...	104
3.5.3.	Анатомо-гистологическое исследование порошка крушины ломкой…….	105
3.6.	Жостер слабительный (*Rhamnus cathartica* L.)……	107
3.6.1.	Ботаническое описание……..	107
3.6.2.	Ботаническая характеристика видов рода…….	108
3.6.3.	Анатомо-гистологическое исследование порошка жостера слабительного…….	108
Выводы к главе 3…….		111
Глава 4.	**ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА, ВЫДЕЛЕНИЕ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ФАРМАКОПЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ…….**	112
4.1.	Исследование химического состава листьев сенны александрийской…….	113
4.1.1.	Выделение и идентификация биологически активных веществ из листьев сенны александрийской…….....	113
4.1.2.	Физико-химическая характеристика выделенных соединений и их производных из листьев сенны александрийской…….....	121
4.2.	Исследование химического состава плодов сенны александрийской…….	124
4.2.1.	Выделение и идентификация биологически активных веществ из плодов сенны александрийской……	124
4.2.2.	Физико-химическая характеристика выделенных соединений и их производных из плодов сенны александрийской……	129
4.3.	Исследование химического состава корней марены красильной……...	132
4.3.1.	Выделение и идентификация биологически активных веществ из корней марены красильной……	132
4.3.2.	Физико-химическая характеристика выделенных соединений и их производных из корней марены красильной……	136
4.4.	Исследование химического состава коры крушины ломкой….	137
4.4.1.	Выделение и идентификация биологически активных веществ из коры крушины ломкой……	137
4.4.2.	Физико-химическая характеристика выделенных соединений	

	и их производных из коры крушины ломкой……	140
4.5.	Исследование химического состава плодов жостера слабительного……	142
4.5.1.	Выделение и идентификация биологически активных веществ из плодов жостера слабительного……..	142
4.5.2.	Физико-химическая характеристика выделенных соединений и их производных из плодов жостера слабительного…….	145
Выводы к главе 4……		147
Глава 5	**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СТАНДАРТИЗАЦИИ ФАРМАКОПЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ……...**	149
5.1.	Стандартизация сырья фармакопейных растений и сборов, содержащих антраценпроизводные……	153
5.1.1.1.	Качественное определение антраценпроизводных в листьях сенны александрийской……	154
5.1.1.2.	Качественное определение антраценпроизводных в плодах сенны александрийской……	156
5.1.1.3.	Качественное определение антраценпроизводных в корнях марены красильной……	158
5.1.2.	ИК-спектрометрия фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные……	160
5.1.3.	Высокоэффективная жидкостная хроматография фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные……	164
5.1.4.	Количественный анализ антраценпроизводных в листьях сенны александрийской……....	168
5.1.5.	Количественный анализ антраценпроизводных в плодах сенны александрийской……	172
5.1.6.	Количественный анализ антраценпроизводных в корнях марены красильной……	176
5.1.7.	Количественный анализ сборов, содержащих в составе кору крушины ломкой……	181
5.1.8.	Количественный анализ сборов, содержащих в составе плоды жостера слабительного……	190
5.1.9.	Количественный анализ лекарственных препаратов, содержащих в составе листья сены александрийской..……	194
5.1.10.	Количественный анализ препарата «Крушины экстракт таблетки»……	198
5.2.	Валидационные характеристики методики спектрофотометрического определения антраценпроизводных……	201
5.3.	Установление числовых показателей……..	212
Выводы к главе 5……		222

Глава 6.	**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ, СТАНДАРТИЗАЦИИ И ИССДЕЛОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ АНТРАХИНОНЫ……**	225
6.1.	Разработка лекарственного препарата «Крушины сироп»: способ получения и стандартизация…….	226
6.1.1.	Технология изготовления сиропа…….	226
6.1.2.	Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Крушины сироп» с помощью УФ-спектрофотометрии……	227
6.2.	Разработка лекарственного препарата «Жостера сироп»: способ получения и стандартизация…….	233
6.2.1.	Технология изготовления сиропа…….	233
6.2.2.	Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Жостера сироп» с помощью УФ-спектрофотометрии……..	234
6.3.	Разработка лекарственного препарата «Сенны сироп»: способ получения и стандартизация…….	239
6.3.1.	Технология изготовления сиропа сенны……	239
6.3.2.	Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Сенны сироп» с помощью УФ-спектрофотометрии……	240
6.4.	Разработка лекарственного препарата «Густой экстракт плодов сенны»: способ получения и стандартизация…….	247
6.4.1.	Технология изготовления густого экстракта плодов сенны…..	247
6.4.2.	Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Густой экстракт плодов сенны» с помощью УФ-спектрофотометрии……...	248
6.5.	Разработка лекарственного препарата «Марены сироп»: способ получения и стандартизация…….	252
6.5.1.	Технология изготовления сиропа марены…….....	252
6.5.2.	Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Марены сироп» с помощью УФ-спектрофотометрии……	252
6.6.	Сравнительный качественный анализ лекарственных растительных препаратов, содержащих антрахиноны с помощью ИК-спектрометрии……	258
6.7.	Сравнительная количественное определение лекарственных растительных препаратов, содержащих антрахиноны с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии….	262
6.8.	Сравнительные доклинические исследования лекарственных препаратов: «Сироп Крушины», «Сироп жостера», «Сироп сенны», «Густой экстракт плодов сенны»……...	268

Выводы к главе 6……	273
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ……..	274
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ…….	275
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ……	276
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ……	278
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ……	279
ПРИЛОЖЕНИЯ……	312
Приложение 1 – Патент «Сироп крушины ломкой»…….	313
Приложение 2 – Патент «Сироп из плодов жостера слабительного»……	314
Приложение 3 – Патент «Сироп из листьев сенны остролистной»..……	315
Приложение 4 – Направление на рассмотрение с целью утверждения проекта ФС «Крушины ломкой кора»……...	316
Приложение 5 – Направление на рассмотрение с целью утверждения проекта ФС «Жостера слабительного плоды»……...	317
Приложение 6 – ФС «Крушины ломкой кора»……..	318
Приложение 7 – ФС «Жостера слабительного плоды»……	330
Приложение 8 – Проект ФС «Крушины ольховидной кора»…….	339
Приложение 9 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России..…….....	348
Приложение 10 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России …….....	349
Приложение 11 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России ……. …....	350
Приложение 12 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России..…….....	351
Приложение 13 – Акт внедрения ГАУЗ «Оренбургский информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения»……..	352
Приложение 14 – Акт внедрения ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»……	353
Приложение 15 – Акт внедрения ЗАО «Самаралектравы»…….	354

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В настоящее время наметилась тенденция все более широкого применения лекарственных растительных средств (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов (ЛРП) как для лечения, так и для профилактики различных заболеваний. В медицинской практике Российской Федерации используется свыше 18 тысяч лекарственных средств, среди которых около 40% производится из ЛРС, причем доля растительных препаратов, применяемых для лечения желудочно-кишечных заболеваний, составляет около 70% (Киселева Т.Л. и др., 2008; Куркин В.А., 2016; Самылина И.А. и др., 2003; 2010). Одной из самых широко используемых групп лекарственных препаратов, применяемых в коррекции функциональных нарушений деятельности пищеварительной системы, являются слабительные средства, среди которых значительный удельный вес занимают ЛРП. Слабительные фармакологические свойства характерны для многих групп растительных веществ (полисахариды, жирные масла растительные), но наиболее ярко они выражены у растений, содержащих антраценпроизводные и их гликозиды (антрагликозиды).

Несмотря на многолетний опыт изучения лекарственных растений, содержащих антраценпроизводные, существуют нерешенные проблемы в области стандартизации сырья и препаратов. Во-первых, некоторые виды ЛРС и ЛРП до сих пор анализируются с использованием качественных реакций, а во-вторых, имеются примеры (крушина ломкая, сенна александрийская), когда в разделе «Количественное определение» методические и методологические подходы к стандартизации не лишены недостатков. Так, неудачным представляется включение в Государственную фармакопею Российской Федерации XIII издания (ФС.2.5.0021.15) двух методик, взятых из ГФ СССР XI издания (в пересчете на истизин) и Европейской фармакопеи (в пересчете на глюкофрангулин А). Видимо, поэтому числовой показатель «сумма антрагликозидов» в отечественной и европейской фармакопеях отличаются значительно – 4,5 % и 7 % соответственно. Кроме того, в ФС.2.5.0038.15 «Сенны листья» включена без критической

переработки методика, описанная из ГФ СССР XI издания, что вносит некоторое несоответствие с международным опытом: нижний предел содержания суммы антраценпроизводных гликозидов в пересчете на сеннозид В – не менее 2,5 % (Европейская фармакопея, 2014) и суммы агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту – не менее 1,35 % (ГФ РФ XIII издания, 2015). К моменту начала исследований в ФС на плоды жостера слабительного (ГФ СССР XI издания) в разделе «Качественные реакции» не использовалась ТСХ, а раздел «Количественное определение» отсутствовал. Следует отметить, что новые инструментальные возможности (ЯМР-спектроскопия, ИК-спектроскопия, ВЭЖХ, ГЖХ, хромато-масс-спектрометрия и др.) создают перспективу проведения более глубоких структурных исследований антраценпроизводных, а также совершенствование методов стандартизации ЛРС и ЛРП, содержащих антраценпроизводные.

Актуальными представляются и анатомо-морфологические исследования видов сырья, содержащего антраценпроизводные, особенно в сравнительном отношении, с учетом новых требований к разделу «Микроскопические признаки» нормативной документации, предполагающих визуализацию диагностических признаков.

Исходя из данных Государственного реестра, список зарегистрированных на территории РФ лекарственных препаратов на основе ЛРС, содержащего антраценпроизводные, достаточно представителен, хотя реальный ассортимент сводится к лекарственному растительному сырью, сборам и многокомпонентным препаратам. Несмотря на разнообразие в данной группе сырья лекарственных растений (крушина ломкая, жостер слабительный, щавель конский и др.), произрастающих на территории РФ, на фармацевтическом рынке преобладают импортные лекарственные препараты, причем преимущественно на основе сырья сенны александрийской, культивируемой за рубежом. Данное обстоятельство свидетельствует об актуальности исследований, направленных на создание новых ЛРП на основе ЛРС, содержащего антрагликозиды. Успешное решение этой

проблемы будет способствовать реализации Стратегии развития фармацевтической отрасли РФ до 2020 г.

Степень разработанности проблемы. Несмотря на достаточно высокую степень изученности химического состава сырья сенны (кассии) александрийской (*Senna alexandrina* Mill.), кассии узколистной (*Cassia angustifolia* Vahl.), крушины ломкой (*Frangula alnus* Mill.), жостера слабительного (*Rhamnus cathartica* L.), щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.) и других растений (Куркин и др., 2015; Самылина И.А. и др., 2010; Muzychkina R.A., 1998), противоречивой остается информация относительно трактовки доминирующих компонентов. Так, в некоторых работах отмечается, что доминирующими веществами являются сеннозиды A, B, C и D (Dave H., Ledwani L., 2012), в других работах - кемпферол-3-O-гентиобиозид (Demirezer L.O., 2011), а в отдельных литературных источниках – реин (Upadhyay A. et al., 2011). Видимо, именно это и является причиной того факта, что до сих пор не сложились единые подходы к стандартизации листьев кассии, а в существующих подходах к анализу не в полной мере используется все разнообразие химического состава сырья кассии (Dave H., Ledwani L., 2012; Demirezer L.O., 2011; Sakulpanich A., Gritsanapan W., 2009). Это касается и другого лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, а именно: коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, корней щавеля конского. В рамках Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания (2015) по некоторым видам ЛРС уже реализованы возможности ТСХ, однако не во всех случаях (например, в ФС на кору крушины ломкой) используются стандартные образцы веществ, содержащихся в конкретном ЛРС и имеющих диагностическое значение.

Особого внимания заслуживает проблема количественного определения содержания антраценпроизводных в ЛРС и ЛРП, поскольку используемые методики громоздки, многостадийны, недостаточно специфичны в силу отсутствия научно обоснованных стандартных веществ, предполагают использование легко летучего и огнеопасного растворителя – диэтилового эфира, а также расчета содержания антраценпроизводных на основе построения калибровочного графика

(растворы кобальта хлорида, хризофановой кислоты) (ГФ СССР XI издания, ГФ РФ XIII издания, Европейская фармакопея, Британская фармакопея и др.).

Обращает на себя внимание также то обстоятельство, что результаты систематических структурных исследований антрахинонов с использованием ЯМР-спектроскопии стали появляться сравнительно недавно и иногда носят противоречивый характер (Liu R. et al., 2004; Muzychkina R.A., 1998), а в случае некоторых антраценпроизводных они отсутствуют.

Принимая во внимание, что в ассортименте слабительных лекарственных растительных средств, представленных на фармацевтическом рынке РФ, преобладают зарубежные средства, актуальным является создание импортозамещающих препаратов слабительного действия, особенно такой лекарственной формы, как сироп, представленный лишь одним отечественным препаратов «Крушины сироп».

Таким образом, являются актуальными исследования, направление на решение проблемы совершенствования стандартизации ЛРС и ЛРП, а также научного обоснования состава и технологии лекарственных препаратов, в том числе такой лекарственной формы, как сироп.

Цель и задачи исследования. Целью исследования является сравнительное фармакогностическое исследование фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные, направленное на разработку новых методических и методологических подходов к стандартизации ЛРС и созданию на основе некоторых видов сырья ЛРП слабительного действия.

Для решения поставленных целей необходимо решить следующие задачи:

1. Обобщить и систематизировать литературные данные по изучению химического состава, вопросов стандартизации ЛРС и ЛРП, а также фармакологических свойств и опыт применения лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные.

2. Провести сравнительное морфолого-анатомическое изучение сырья фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные.

3. Провести сравнительное исследование химического состава коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, листьев и плодов сенны александрийской, корней марены красильной, а также лекарственных препаратов на основе вышеперечисленных видов сырья.

4. Разработать методики качественного ТСХ-анализа ЛРС, содержащего антраценпроизводные с использованием стандартных образцов антрагликозидов (раздел «Подлинность» проектов фармакопейных статей).

5. Научно обосновать показатели качества, а также методические и методологические подходы к стандартизации ЛРС и ЛРП, содержащих антраценпроизводные.

6. Разработать методики количественного определения суммы антраценпроизводных в ЛРС «Сенны листья», «Сенны плоды», «Марены красильной корни», «Ревеня тангутского корни».

7. Научно обосновать состав и технологию получения лекарственных растительных препаратов «Сенны сироп», Крушины сироп», Жостера слабительного сироп», Марены красильной сироп».

8. Разработать показатели качества, а также методики качественного и количественного анализа лекарственных препаратов, содержащих антраценпроизводные.

9. Провести сравнительное исследование слабительного действия лекарственных субстанций на основе сырья крушины ломкой, жостера слабительного и сенны александрийской.

10. На основе результатов фармакогностических исследований разработать нормативную документацию на ЛРС «Сенны листья», «Крушины ломкой кора», «Жостера слабительного плоды» для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации XIII издания.

Научная новизна. Впервые в сравнительном плане проведено анатомо-морфологическое исследование видов ЛРС (кора крушины ломкой, плоды жостера слабительного, листья и плоды сенны александрийской, корни ревеня тангутского, корни марены красильной, листья и побеги алоэ древовидного), содержащего

антраценпроизводные, что позволило выявить дополнительные анатомо-гистологические признаки, актуальные с точки зрения идентификации сырья. В результате углубленного фитохимического изучения листьев и плодов сенны александрийской впервые выделены и охарактеризованы с использованием УФ-, ИК-, ^{1}H- и ^{13}C-ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии индивидуальные вещества, относящиеся к антраценпроизводным (неореин, реин, сеннозид В), флавоноидам (кемпферол-3-О-гентиобиозид) и производным нафталина (торахризон-8-О-β-D-глюкопиранозид), причем 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон является новым природным соединением, для которого установлено химическое строение. При этом определено, что доминирующими компонентами листьев сенны александрийской являются неореин, кемпферол-3-О-гентиобиозид и 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона, коры крушины ломкой - франгулин А и франгулин В, плодов жостера слабительного – 3-О-рутинозид рамнетина и эмодин-1-О-β-D-глюкопиранозид, которые, на наш взгляд, представляют интерес с точки зрения определения подлинности данных видов сырья.

На основе результатов химического исследования коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, листьев сенны александрийской и корней марены красильной разработаны новые методологические подходы к стандартизации сырья данных растений, разработаны методики качественного и количественного определения антраценпроизводных с использованием ИК-, УФ-спектроскопии, ВЭЖХ, ТСХ. При этом научно обоснована целесообразность проведения экстракции с использованием водных спиртов вместо подходов, предусматривающих сочетание экстракции с кислотным гидролизом и последующим извлечением анализируемых веществ диэтиловым эфиром, являющимся огнеопасным растворителем. Кроме того, в разработанных методиках обоснован подход к расчету содержания суммы антраценпроизводных в ЛРС, предусматривающий использование соответствующего стандартного образца (франгулин А, сеннозид В, 8-О-глюкозид эмодина, руберитриновая кислота) или

теоретического значения удельного показателя поглощения для вышеперечисленных антраценпроизводных.

Научная новизна подтверждена тремя патентами РФ на изобретения: «Сироп из плодов жостера слабительного», «Сироп крушины ломкой», «Сироп из листьев сенны остролистной», причем для вышеперечисленных лекарственных препаратов обнаружены выраженные слабительные свойства, что делает их перспективными в плане внедрения в медицинскую практику.

Теоретическая и практическая значимость работы. В результате сравнительного изучения химического состава видов ЛРС, содержащего антраценпроизводные, расширены представления о компонентном составе сырья с точки зрения диагностической значимости доминирующих веществ при определении подлинности ЛРС и ЛРП.

Разработаны методики качественного ТСХ-анализа ЛРС, содержащего антраценпроизводные с использованием стандартных образцов антрагликозидов (раздел «Подлинность» проектов фармакопейных статей).

Научно обоснованы показатели качества, а также методические и методологические подходы к стандартизации ЛРС и ЛРП, содержащих антраценпроизводные, заключающиеся в использовании спектрофотометрии, ИК-спектроскопии, ТСХ, ВЭЖХ, а также соответствующих стандартных образцов антрагликозидов (франгулин А, сеннозид В, руберитриновая кислота). Разработатаны методики количественного определения суммы антраценпроизводных в ЛРС «Сенны листья», «Сенны плоды», «Марены красильной корни», «Ревеня тангутского корни».

Научно обоснованы состав и технология получения лекарственных растительных препаратов «Сенны сироп», Крушины сироп», Жостера слабительного сироп», «Сенны плодов густой экстракт», «Марены красильной сироп», а также разработаны показатели качества, методики качественного и количественного анализа лекарственных препаратов, содержащих антраценпроизводные.

Проведено сравнительное исследование слабительного действия лекарственных субстанций на основе сырья крушины ломкой, жостера слабительного и сенны александрийской и при этом определено, что препараты плодов жостера слабительного и сенны александрийской (отвар и сироп) обладают более выраженным слабительным эффектом по сравнению с соответствующими препаратами коры крушины ломкой.

На основе результатов фармакогностических исследований разработаны фармакопейные статьи «Крушины ломкой кора», «Жостера слабительного плоды», включенные в Государственную фармакопею Российской Федерации XIII издания, а также дополнения к ФС 2.5.0038.15 «Сенны листья» (раздел «Подлинность» и «Количественное определение»).

Внедрение в практику. Проведенные исследования позволили разработать и утвердить:

- фармакопейные статьи «Крушины кора» и «Жостера слабительного плоды», включенные в Государственную фармакопею Российской Федерации XIII издания;

- методики качественного ТСХ-анализа ЛРС, содержащего антраценпроизводные с использованием стандартных образцов антрагликозидов соответствующих стандартных образцов антрагликозидов (франгулин А, сеннозид В, руберитриновая кислота);

- методики количественного определения суммы антраценпроизводных в ЛРС «Сенны листья», «Сенны плоды»;

- способы получения и методики стандартизации новых лекарственных слабительных препаратов: «Крушины сиропа», «Жостера сироп», «Сенны сироп», «Сенны плодов густой экстракт» и «Марены сироп»;

- разработанные в результате проведенных исследований методики анализа сырья и препаратов, содержащих антраценпроизводные, апробированы и внедрены в работу ГАУЗ «Оренбургский информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения», ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области», ЗАО «Самаралектравы».

Фрагменты настоящего диссертационного исследования находят применение в научной и учебной работе кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные исследования, проведенные в ходе выполнения диссертационной работы, включены в монографию В.А. Куркина, А.А. Шмыгаревой, А.Н. Санькова «Антраценпроизводные фармакопейных растений» (2016 г.).

Методология и методы исследования. Методологической основой исследования является поиск, анализ и систематизация литературных данных в области антраценпроизодных, содержащихся в фармакопейных растениях: степень изученности химического состава ЛРС и фармакологических свойств, подходы к стандартизация сырья, разработка нормативной документации на растительное сырье, обобщение материалов в виде выводов, определяющих теоретическое и практическое значение диссертационной работы.

При выполнении фармакогностического исследования применяли физико-химические (УФ-спектроскопия, ИК-спектроскопия, ВЭЖХ, газожидкостная хромато-масс-спектрометрия), химические, фармакологические, макро- и микроскопические, а также статистические методы анализа. Результаты исследований являются методологической основой для дальнейших фундаментальных исследований по проблеме стандартизации сырья лекарственных растений, содержащих в качестве основной группы БАС антраценпроизводные, а также создания лекарственных препаратов слабительного действия.

Разработанные методические и методологические подходы к стандартизации сырья фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные, применимы и для других растений, содержащих антрагликозиды.

Разработаны принципы стандартизации и применения лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, а также другие группы веществ (флавоноиды, производные нафталина, дубильные вещества), являющимися потенциальными биологически активными соединениями.

Положения, выносимые на защиту:

- результаты сравнительного морфолого-анатомического изучения сырья фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные;

- результаты сравнительного исследования химического состава коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, листьев и плодов сенны александрийской, корней марены красильной, а также лекарственных препаратов на основе вышеперечисленных видов сырья.

- результаты изучения антраценпроизводных и других фенольных соединений (флавоноиды, производные нафталина), методы их выделения, идентификации и установления строения;

- методики качественного ТСХ-анализа ЛРС, содержащего антраценпроизводные с использованием стандартных образцов антрагликозидов (раздел «Подлинность» проектов фармакопейных статей);

- методики количественного определения суммы антраценпроизводных в ЛРС «Сенны листья», «Сенны плоды», «Марены красильной корни», «Ревеня тангутского корни».

- показатели качества, а также методические и методологические подходы к стандартизации ЛРС и ЛРП, содержащих антраценпроизводные;

- теоретическое обоснование и экспериментальное подтверждение состава и технологии получения лекарственных растительных препаратов, содержащих антраценпроизводные;

- результаты исследования фармакологической активности лекарственных растительных препаратов на основе сырья, содержащего антраценпроизводные.

Степень достоверности. Научные положения, выводы диссертационной работы основываются на большом объеме экспериментального материала, полученного с использованием современных фармакогностических, химических,

физико-химических (колоночная хроматография, ТСХ, ВЭЖХ), спектральных методов (УФ-, ИК- ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия) и фармакологических методов, что подтверждается большим количеством таблиц, рисунков, схем хроматограмм. Все результаты исследований обработаны статистически в соответствии с требованиями ГФ СССР XI издания и Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания, а также с помощью программы «Microsoft Excel». Различия между группами считались статистически значимыми при $P<0,05$. Разработанные методики количественного определения валидированы.

Апробация результатов. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: VII Архангельская международная медицинская научная конференция молодых ученых и студентов «Медицина будущего – Арктике» (г. Архангельск, 2014 г.), IV Международная научно-практическая конференция «Теоретические и прикладные аспекты современной науки» (г. Белгород, 2015 г.), XV Международная научно-практическая конференция «Современные концепции научных исследований» (г. Москва, 2015 г.), VII Международная научно-практическая конференция «Инновационные процессы в научной среде» (г. Пермь, 2015 г.), VII Международная научно-практическая конференция «Управление инновациями в современной науке» (г. Самара, 2015 г.), Международная научно-практическая конференция «Современные тенденции развития науки и технологий» (г. Белгород, 2015 г.), IX Международном симпозиуме «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (г. Москва, 2015 г.), VIII Международная научно-практическая конференция «Результаты научных исследований» (г. Тюмень, 2016 г.), VIII Международная научно-практическая конференция «Современные концепции развития науки» (г. Курган, 2016 г.), Международная конференция «Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине», посвященная 85-летию ВИЛАР (Москва, 2016 г.), VIII Международная научно-практическая конференция «Наука, образование и инновации» (Екатеринбург, 2016), IV Научно-практическая конференция «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья

природного происхождения в медицине» (Москва, 2016), VIII Международная научно-практическая конференция «Традиционная и инновационная наука: история, современное состояние, перспективы» (Екатеринбург, 2016), VIII Международная научно-практическая конференция «Современные технологии в мировом научном пространстве» (Казань, 2016), VIII Международная научно-практическая конференция «Проблемы и перспективы развития науки в России и мире» (Уфа, 2016), I Межвузовская студенческая научно-практическая конференция «Современные проблемы фармакогнозии» (Самара, 2016), IX Международная научно-практическая конференция «Проблемы и перспективы развития науки в России и мире» (Екатеринбург, 2017), IX Международная научно-практическая конференция «Научные исследования и разработки в эпоху глобализации» (Волгоград, 2017), I Межвузовская студенческая научно-практическая конференция «Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы» (Самара, 2016).

Связь темы исследований с планом научных работ. Диссертационная работа выполнена в соответствии с тематическом планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (№ Гос. регистрации 01200900568 до 28.04.2015; с 28.04.2015 № Гос. регистрации 115042810034; наименование НИОКР - «Комплексные исследования по разработке лекарственных средств природного и синтетического происхождения»).

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликованы 55 работ, в том числе 34 статьи в журналах перечня ВАК Министерства образования и науки РФ; 3 патента РФ на изобретение, 1 монография, 2 фармакопейные статьи «Крушины ольховидной кора», «Жостера слабительного плоды» (ГФ РФ XIII издания, 2015 г.).

Личный вклад автора. Автором лично выбраны объекты исследования, направление исследований, поставлены цели и задачи исследования. Автором проведен научно-информационный поиск, проведены экспериментальные исследования. В сборе, анализе, систематизации и обобщении полученных результатов доля автора является определяющей.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.04.02-фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пунктам 2, 3, 4, 5, 6, 7.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 354 страницах машинописного текста, данные проиллюстрированы 137 рисунками и изложены в форме 60 таблиц. Диссертационная работа включает введение, обзор литературы, описание объектов и методов, использованных в ходе выполнения диссертационного исследования, 4-х глав, описывающих результаты собственных исследований, заключение и список литературы, состоящий из 338 источников, в том числе 76 – на иностранных языках.

Введение отражает актуальность диссертационной работы, включает цель и задачи исследования, описывает научную новизну и практическую значимость проводимого исследования, излагает основные положения, которые выносятся на защиту, приводит сведения о публикациях и апробации работы.

Глава 1 включает обзор литературы отечественных и зарубежных авторов на предмет исследований лекарственного растительного сырья и препаратов, фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды: сенны александрийской, марены красильной, ревеня тангутского, алоэ древовидного, крушины ломкой, жостера слабительного. В главе изложены имеющиеся сведения современного состояния исследований фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, а также описано применение данных растений в традиционной и народной медицине. Приведена информация о подходах к анализу сырья фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, применяемых в Российской Федерации и других странах.

В главе 2 представлены объекты и использованные методы исследования. Изложены методики определения подлинности и количественного содержания БАС в лекарственном растительном сырье фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды.

В главе 3 приводятся результаты морфолого-анатомического анализа листьев и плодов сенны александрийской, корней марены красильной, корней ревеня

тангутского, листьев и побегов алоэ древовидного, порошка коры крушины ломкой, порошка плодов жостера слабительного.

В главе 4 изложены результаты фитохимических исследований лекарственного растительного сырья фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, а также приведены результаты выделения индивидуальных БАС.

Глава 5 посвящена результатам по разработке методик качественного и количественного анализа сырья фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды.

В главе 6 приводятся результаты исследований по обоснованию состава, технологии получения и методик анализа препаратов на основе листьев и плодов сенны александрийской, корней марены красильной, коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного. Описаны результаты изучения слабительной активности препаратов на основе лекарственного растительного сырья фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды.

Диссертация завершается заключением и списком литературы.

В приложениях представлены акты внедрения, патенты РФ №2557929 «Сироп крушины ломкой», №2582276 «Сироп жостера слабительного», № 2582982 «Сироп из листьев сенны александрийской», проект фармакопейной статьи «Крушины ольховидной кора».

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ФАРМАКОПЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

В настоящее время наметилась тенденция все более широкого использования лекарственных средств растительного происхождения, как для лечения, так и для профилактики различных заболеваний [102, 103, 104]. В медицинской практике Российской Федерации используется свыше 18 тысяч лекарственных средств, среди которых около 40% производится из лекарственного растительного сырья [26, 49, 121, 138, 148]. Доля растительных препаратов, применяемых для лечения желудочно-кишечных заболеваний, составляет около 70% [44, 49, 58, 162, 210, 218, 257].

Одной из самых широко используемых групп лекарственных препаратов, применяемых в коррекции функциональных нарушений деятельности пищеварительной системы, являются слабительные средства [3, 24, 57, 73, 154]. Слабительные фармакологические свойства ярко выражены у целого ряда растений, например, у крушины ломкой (*Frangula alnus* Mill.), жостера слабительного (*Rhamnus cathartica* L.), сенны александрийской *(Senna alexandrina* Mill.), алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) [57, 272, 284, 328]. Данный эффект растения обусловливает ведущая группа биологически активных веществ (БАВ) – антраценпроизводные [154, 168, 183, 203, 232, 289].

Несмотря на многолетний опыт изучения растений, содержащих антраценпроизводные, существуют нерешенные проблемы в области стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов (ЛРП) [52, 53, 54, 57, 272, 284]. Большинство видов ЛРС до выхода в свет Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания анализировались с использованием качественных реакций (крушина

ломкая, жостер слабительный, сенна александрийская и др.) [52]. Новые инструментальные возможности (ЯМР-спектроскопия, ВЭЖХ, ГЖХ, хромато-масс-спектроскопия и др.) создают перспективу проведения более глубоких структурных исследований антраценпроизводных, а также совершенствование методов стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, содержащих антраценпроизводные [15].

Важно подчеркнуть, что в настоящий время в ассортименте лекарственных средств, в том числе фитопрепаратов, представленных на фармацевтическом рынке РФ, сложилась неблагоприятная ситуация, заключающаяся в доминировании зарубежных препаратов [44, 103, 148, 210, 218]. В связи с этим представляется целесообразным создание импортозамещающих препаратов, в том числе на основе лекарственных растений, содержащих антраценпроизводные. Успешное решение этой проблемы будет способствовать реализации Стратегии развития фармацевтической отрасли РФ до 2020 г.

На сегодняшний момент на отечественном фармацевтическом рынке группа слабительных лекарственных средств в основном представлена препаратами на основе сырья сенны, или кассии («Сенаде», «Сенадексин», «Регулакс», «Лив 52», «Кафиол» и др.) [44, 103, 148, 210, 218]. Что же касается зарегистрированной в РФ номенклатуры препаратов крушины ломкой и крушины слабительной (жостера слабительного), то она хотя и разнообразна («Рамнил», «Викаир», «Викалин», «Сироп крушины», «Холагол», «Желудочный сбор № 3», «Проктофитол», фиточай «Целебная поляна № 3» для похудения и др.), однако ее реальный ассортимент в аптечных организациях представлен в основном сырьем коры крушины ломкой и плодами жостера слабительного [44, 103, 148, 210, 218].

Поэтому целью настоящей работы является обобщение и систематизация литературных данных, а также результатов собственных исследований по углубленному фармакогностическому исследованию фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные, обоснованию создания отечественных импортозамещающих ЛП на основе сырья данных растений, а также разработке объективных методов их стандартизации.

1.1. Распространение антраценпроизводных в фармакопейных растениях

С целью систематизации фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные, нами разработана классификация, позволяющая учитывать всю совокупность БАС с точки зрения биологической активности, стандартизации и технологии получения лекарственных препаратов:

1. Фармакопейные растения, содержащие антраценпроизводные в качестве ведущей группы БАС.

2. Фармакопейные растения, содержащие флавоноиды и антраценпроизводные.

В соответствии с данной классификацией в таблице 1.1 приведена характеристика фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные в качестве ведущей или второй группы БАС. Во втором случае акцент сделан на вкладе антраценпроизводных в фармакологический эффект, и на их использовании в качестве критерия подлинности и качества сырья (обозначено в таблице 1.1 в колонке «Практическое значение антраценпроизводных» как стандартизация) [57, 163, 164, 167, 168].

Таблица 1.1 - **Характеристика фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные**

	Лекарст-венное растение (сырье)	Ведущая группа БАС (подгруппа, доминирующее или преобладающее вещество)	Антрацен-производные как вторая группа БАС	Практическое значение антрацен-производных
	Алоэ древовидное (листья, побеги)	Антрацен-производные (алоэ-эмодин, алоин, алоинозид)		Биостимулирующее, регенерирующее, адаптогенное, общетонизирующее, слабительное, стандартизация.
	Жостер слабитель-ный (плоды)	Флавоноиды (3-О-рутинозид рамнетина)	Антрацен-производные (франгулин А, 1-О-β-D-	Слабительное средство, стандартизация.

			глюкопира-нозид эмодина)	
	Зверобой продырявленный, зверобой пятнистый (трава)	Флавоноиды (гиперозид, рутин)	Антрацен-производные (гиперицин, псевдоги-перицин)	Вяжущее, антисептическое, антидепрессивное, желчегонное, спазмолитическое, фотосенсиби-лизирующее, стандартизация.
	Крушина ломкая (кора)	Антрацен-производные (франгулин А, франгулин В, эмодин)		Слабительное средство, стандартизация.
	Марена красильная, марена грузинская (корни)	Антрацен-производные (руберитриновая кислота, рубиадин)		Диуретическое, спазмолитическое, камнеразрыхляющее, стандартизация.
	Ревень тангутский (корни)	Антрацен-производные (реин, алоэ-эмодин, франгулоэмодин, хризофанол). Дубильные вещества (галлотанины)		Слабительное (в больших дозах), противовоспа-лительное, вяжущее (в малых дозах), стандартизация.
	Сенна александрийская (листья, плоды)	Антрацен-производные (сеннозиды А и В, сеннозиды С и D)		Слабительное средство, стандартизация.
	Щавель конский (корни)	Антрацен-производные (глюко-реум-эмодин, хризофанеин). Дубильные вещества (галлотанины)		Слабительное (в больших дозах), противовоспа-лительное, вяжущее (в малых дозах), гипотензивное, седативное, стандартизация.

Таким образом, приведенные в таблице 1 данные свидетельствуют о малой распространенности антраценпроизводных в фармакопейных растениях, но говорят об их высокой значимости с точки зрении стандартизации, технологии получения антраценпроизводных субстанций, вклада в фармакологические эффекты.

1.2. Современные проблемы стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные

В 2015 году выпущена Государственная Фармакопея Российской Федерации XIII издания, несмотря на продолжительную разработку (временной промежуток с Государственной Фармакопеей XI издания составляет более 25 лет) доля лекарственного растительного сырья минимизирована и включает фармакопейные статьи лишь на 55 видов растений. Что же касается лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, то в Государственной Фармакопее XIII издания представлены фармакопейные статьи на «Жостер слабительный», «Зверобой продырявленный», «Зверобой пятнистый», «Крушину ольховидную», «Сенну александрийскую», «Щавель конский» [57]. Фармакопейные статьи на марену красильную и ревень тангутский в Государственной Фармакопее РФ XIII издания отсутствуют и приходится использовать устаревшие методики качественного и количественного анализа Государственной Фармакопеи СССР XI издания [50, 51, 52]. В Государственной Фармакопее СССР XI издания качественный анализ представлен пробирочными реакциями (ревень тангутский), в количественном определении используются многостадийные методики фотоэлектроколориметрического определения, включающие такие стадии, как кислотный гидролиз, многократную экстракцию сырья, обработку диэтиловым эфиром – легкокипящим огнеопасным растворителем (марена красильная, ревень тангутский) [52]. Наиболее перспективные методы установления подлинности лекарственного растительного сырья является тонкослойная хроматография, ИК-спектроскопия, ВЭЖХ, к методам количественного определения относятся

спектофотометрия и ВЭЖХ, однако использование данных методов возможно лишь на основе глубокого изучения компонентного состава лекарственных растений. Современные инструментальные возможности (ЯМР-спектроскопия, ВЭЖХ, ГЖХ, хромато-масс-спектрометрия и др.) создают перспективу проведения более глубоких структурных исследований антраценпроизводных, а также совершенствования методов стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, содержащих антраценпроизводные [22, 55, 56, 264, 265, 270, 286, 287, 312]. В Государственной Фармакопее СССР XI издания в фармакопейных статьях на корни марены красильной отсутствует качественное определение [52]. В данных фармакопейных статьях отражены в основном товароведческие признаки соответствующих видов сырья, которые, безусловно, важны для характеристики рекомендуемых видов растительного сырья, но не позволяют гарантировать качество соответствующих лекарственных средств. Листья и побеги алоэ древовидного, в составе которых содержатся антраценпроизводные, не удостоились внимания ни ГФ XI издания, ни ГФ XIII издания, хотя данное сырье активно используется для приготовления такого лекарственного препарата, как сок алоэ и требует тщательной стандартизации [52, 57].

Обобщенные сведения о качественном и количественном анализе лекарственного растительного сырья представлены в таблицах 2 и 3 [52, 57, 272, 284, 330].

Таблица 1.2 - Сравнительный анализ подходов к стандартизации ЛРС, используемых в мировой фармацевтической практике: качественный анализ

/п	Наименование ЛРС	ГФ России XIII издания	ГФ СССР XI издания	Европейская фармакопея	Британская фармакопея	Фармакопея США

1.	Алоэ древовидное листья и побеги	-	-	-	-	Химические реакции: -реакция с азотной кислотой -реакция с гидроксидом аммония
2.	Жостера слабительного плоды	ТСХ. СО: франгулин А	Химическая реакция: -реакция со щелочью	-	-	-
3.	Крушины ломкой кора	ТСХ. СО: Барбалоин. Химическая реакция: -реакция со щелочью	Химические реакции: -реакция со щелочью; -реакция Борнтрегера	-	ТСХ. СО: франгула-эмодин, франгулины Химическая реакциия: -реакция Борнтрегера	-
4.	Марены красильной корни	-	-	-	-	-
5.	Ревеня тангутского корни	-	Химическая реакция: -реакция Борнтрегера	ТСХ. СО: эмодин.	-	-
6.	Сенны александрийской листья	ТСХ. СО: Сеннозид В, барбалоин.	Химическая реакция: -реакция определения оксиантрохинонов	-	ТСХ. СО: Сеннозиды А, В, С, D.	Химическая реакция: -реакция с гидроксидом калия в кислоий среде с добавлением эфира

						и аммония гидроксида
7.	Щавеля конского корни	ТСХ. СО: 8-0-β-D-глюкопиранозид эмодина	-	-	-	-

Таблица 1.3 - Сравнительный анализ подходов к стандартизации ЛРС, используемых в мировой фармацевтической практике: количественный анализ

/п	Наименование ЛРС	ГФ России XIII издания	ГФ СССР XI издания	Европейская фармакопея	Британская фармакопея	Фармакопея США
1.	Алоэ древовидное листья и побеги	-	-	-	-	-
2.	Жостера слабительного плоды	Спектрофотометрия: λ=524 нм. Сумма антраценпроизводных в пересчете на франгулин А	-	-	-	-
3.	Крушины ломкой кора	Спектрофотометрия: λ=515 нм. Сумма антраценпроизводных в пересчете на глюкофрангулин А Фотоэлектроколори-	Фотоэлектроколориметрия: λ=540 нм. Сумма антраценпроизводных в пересчете на истизин	-	Спектрофотометрия: λ=515 нм. Сумма антраценпроизводных в пересчете на глюкофрангулин А	-

		метрия: λ=540 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете на истизин				
4.	Марены красиль-ной корни	-	Фото-электро-колори-метрия: λ=530 нм. Сумма антрацен-производных в пересчете на абсолютно сухое вещество	-	Спектро-фотометрия: λ=530 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете на абсолютно сухое вещество	-
5.	Ревеня тангутс-кого корни	-	Фото-электро-колори-метрия: λ=530 нм. Сумма антрацен-производных в пересчете на истизин	Спектро-фотометрия: λ=468 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете на барбалоин	Фото-электро-колори-метрия: λ=530 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете на истизин	-
6.	Сенны алексан-дрийской листья	Спектро-фотометрия: λ=523 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете на хризофано-	Спектро-фотомет-рия: λ=523 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете на хризо-	-	Спектро-фотометрия: λ=515 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете на сеннозид В	Флуори-метрия: λ=392 нм, λ=505 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете

		вую кислоту	фановую кислоту			на сеннозиды
7.	Щавеля конского корни	Спектро-фотометрия: λ=520 нм. Сумма антрацен-производных в пересчете на 8-0-β-D-глюкопира-нозид эмодина	-	-	-	-

Одной из актуальнейших проблем на сегодняшний момент в фармакопейном анализе является отсутствие стандартных образцов для лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные. По данным ВОЗ, фармакопеями ведущих стран мира в общей сложности используется свыше 2000 химических и биологических стандартных образцов, Европейской фармакопеей - около 600, Британской фармакопеей - 370 наименований стандартных образцов [272, 284]. В анализе отечественных лекарственных средств используются около 200 стандартных образцов [57]. В оценке качества лекарственных препаратов растительного происхождения наиболее часто применяют около 20 стандартных образцов.

Использование стандартных образцов затрагивает все аспекты контроля качества лекарственных средств и является необходимым условием внедрения в фармакопейный анализ физико-химических методов: спектрофотометрии, ИК-спектроскопии, полярографии, ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ и др. [22, 55, 56, 264, 265, 270, 286, 287, 312].

Препараты, содержащие производные антрахинона (кора крушины ломкой, плоды жостера слабительного, листья сенны александрийской, корни щавеля конского, корни ревеня тангутского, корни марены красильной, листья и побеги алоэ), входят в группу слабительных средств растительного происхождения [17, 27,

36, 66, 74, 85, 94, 110, 165]. Антрахиноны представляют собой гликозиды, почти не связывающиеся с рецепторами в тонком кишечнике. В толстом кишечнике под воздействием микроорганизмов происходит отщепление сахара от молекулы антрахинона и восстановление ее до свободного антрона или антранола, которые и являются действующими веществами. Они оказывают свое действие непосредственно в толстом кишечнике на секрецию и перистальтику (на тонкий кишечник они практически на влияют). Под воздействием антрахинонов усиливается перистальтика толстого кишечника (прежде всего в области *Colon transversum*), при этом сокращается время прохождения каловых масс [32, 108, 134, 159, 169, 176, 190, 217, 222, 224, 234, 288, 331].

Препаратами на основе лекарственного растительного сырья, которые содержат антраценпроизводные, следует проводить курсы лечения при хроническом запоре вследствие гипотонии толстой кишки («атонический запор»), действующими преимущественно на перистальтику толстой кишки. Эти же слабительные назначают при кратковременном запоре, например, в период выздоровления посте инфекционного заболевания, при вынужденном постельном режиме. Данные препараты назначают внутрь в качестве мягко действующих слабительных средств, эффект которых наступает через 8-10 часов после приема [79, 96, 166, 179, 195, 220, 223, 233, 271, 279, 292, 331].

Кроме того, в настоящее время в ассортименте лекарственных средств вышеперечисленного спектра биологической активности, представленных на фармацевтическом рынке РФ, сложилась неблагоприятная ситуация, заключающаяся в доминировании зарубежных препаратов. В связи с этим представляется целесообразным создание импортозамещающих препаратов, в том числе на основе лекарственных растений, содержащих антраценпроизводные. Указанный взаимосвязанный комплекс проблем обусловливает актуальность как совершенствования имеющейся нормативной документации (НД), так и разработки новой нормативной документации на ЛРС, лекарственные субстанции и препараты.

1.3. Методы выделения антраценпроизводных из лекарственного растительного сырья

Для выделения антраценпроизводных из лекарственного растительного сырья проводят экстракцию этиловым, метиловым или водными спиртами (чаще всего используют 70% этиловый спирт). Для извлечения агликонов используют органические растворители (диэтиловый эфир, хлороформ и др.) [309]. Многие схемы экстракции антраценпроизводных, включая методики количественного определения, предусматривают предварительный кислотный гидролиз. Для получения агликонов гликозиды в растительном материале подвергают гидролизу кислотами (чаще всего ледяной уксусной кислотой) при нагревании, после чего извлекают свободные агликоны диэтиловым эфиром или хлороформом. Щелочной гидролиз применять не следует из-за образующихся полиантронов [309].

При выделении антраценпроизводных используют их способность реагировать со щелочами [57, 309]. Антрахиноны, имеющие в качестве заместителя карбоксильную группу, растворяются в водных растворах карбонатов и гидрокарбонатов щелочных металлов и их гидроксидов с образованием солей. Антрахиноны с гидроксилом в β-положении не взаимодействуют с гидрокарбонатами, а с водными растворами карбонатов и гидроксидов щелочных металлов дают феноляты. Вещества, содержащие α-гидроксил, образуют феноляты только в растворах щелочей. Различие свойств гидроксигрупп в α- и β-положениях объясняется тем, что α-гидроксилы образуют внутримолекулярную водородную связь с соседней карбонильной группой и поэтому обладают меньшей реакционной способностью. Основным методом разделения антраценпроизводных является колоночная хроматография. В качестве сорбента при этом наиболее успешно применяется полиамид, силикагель. В качестве элюента при разделении антрагликозидов служат в основном водно-спиртовые смеси, а при разделении агликонов – гексан, хлороформ, смеси хлороформа и спирта в различных соотношениях [309].

1.4. Методы, используемые для установления строения и идентификации антраценпроизводных

Реакция со щелочью и реакция микросублимации позволяют судить о наличие антраценпроизводных в лекарственном растительном сырье, которые нашли свое отражение в нормативной документации на ЛРС и фитопрепараты, содержащие антраценпроизводные (в разделах «Качественные реакции» и «Подлинность») [52].

Помимо качественных реакций, которые позволяют сделать выводы о наличии антраценпроизводных, существует целый ряд методов, с помощью которых устанавливают строение. К их числу относят различные химические превращения (кислотный гидролиз, ферментативный гидролиз, щелочной гидролиз и деструкция, ацетилирование, метилирование), а также физико-химические и спектральные методы, а именно: тонкослойная хроматография, хроматография на бумаге, колоночная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, УФ-спектроскопия, ИК-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия и др.) [309].

1.4.1. Методы химической трансформации антраценпроизводных

Для выделения веществ используются различные химические превращения, а именно: кислотный гидролиз, ступенчатый кислотный гидролиз, ферментативный гидролиз.

1.4.1.1. Кислотный гидролиз

Полный кислотный гидролиз большинства антраценпроизводных проводят путем нагревания измельченного лекарственного растительного сырья нагревают с ледяной уксусной кислотой на водяной бане в течение 15 мин. Полноту гидролиза контролируют ТСХ. Из охлажденной реакционной смеси отфильтровывают кристаллы агликона через взвешенный стеклянный фильтр, а в случае некристаллического агликона его извлекают из кислотного гидролизата хлороформом. Водный раствор упаривают в вакууме и используют для идентификации углевода методом БХ [309].

1.4.1.2. Ступенчатый кислотный гидролиз

Ступенчатый кислотный гидролиз проводят в случае наличия биозидов антраценпроизводных, с целью установления строения углеводной части, в том числе места или последовательности присоединения сахаров [309].

1.4.1.3. Ферментативный гидролиз

Ферментативный гидролиз проводят с целью мягкого расщепления гликозидов ферментами, избирательно отщепляющими моносахариды (например, глюкозу β-глюкозидазой). В частности, при термостатировании 1-O-β-D-глюкопиранозида эмодина в течение 24-48 часов при температуре 38 ºС с β-глюкозидазой («Serva») данное вещество расщепляется на агликон (эмодин) и глюкозу. Как правило, из гидролизата агликон выпадает в осадок, его отделяют и анализируют методом ТСХ, масс-спектрометрии и другими методами, а в водном растворе методом БХ идентифицируют углевод (глюкоза) [309].

1.4.2. Спектральные методы, используемые для исследования антраценпроизводных и лекарственного растительного сырья

УФ-спектроскопия, ИК-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия, масс–спектрометрия являются наиболее информативными спектральными методами и широко используются для установления строения природных соединений и стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, содержащих антраценпроизводные [55, 62, 72, 91, 100, 264, 265, 270, 286, 287, 312].

В целях стандартизации ЛРС и фитопрепаратов наиболее часто применяется спектрофотометрия, причем нередко в сочетании с другими методами, например, хроматографическими [57, 64, 140, 186].

1.4.2.1. УФ-спектроскопия

УФ-спектроскопия на сегодняшний момент является одним из наиболее популярных и информативных методов качественного и количественного определения группы доминирующих веществ в лекарственном растительном сырье. Спектральные характеристики антраценпроизводных достаточно хорошо изучены и нашли свое отражение в Государственной Фармакопее Российской Федерации XIII издания [55, 57], однако по-прежнему имеются нерешенные проблемы и в области стандартизации ЛРС, содержащего антрагликозиды. Так, методический подход, предусматривающий определение подлинности сырья «Крушины ломкой кора» (ФС.2.5.0021.15) по отсутствию барбалоина на хроматограмме испытуемого раствора, представляется ошибочным [57]. Кроме того, нелогичным является включение в Государственную фармакопею Российской Федерации XIII издания (ФС.2.5.0021.15) двух методик, взятых из ГФ СССР XI издания (в пересчете на истизин) [52] и Европейской фармакопеи (в пересчете на глюкофрангулин А) [284]. Видимо, поэтому числовой показатель «сумма антрагликозидов» в отечественной и европейской фармакопеях отличаются значительно – 4,5 % и 7 % соответственно. Расхождения подобного рода имеют место и в случае листьев сенны: в цельном сырье суммы агликонов антраценового ряда в пересчете на **хризофановую кислоту** (**хризофанол**) не менее 1,35 % (ФС.2.5.0038.15 ГФ РФ XIII издания), в европейской фармакопее в пересчете на **сеннозид В** – не менее 2,5 %) [57]. На наш взгляд, включение в ФС.2.5.0038.15 методики количественного определения суммы агликонов антраценового ряда, взятой из ГФ СССР XI издания без критической переработки, является неудачным решением [52]. Кроме того, до сих пор не решены проблемы стандартизации сырья алоэ древовидного, марены красильной и ревеня тангутского, в связи с этим является актуальным дальнейшее изучение спектральных характеристик антраценсодержащего лекарственного растительного сырья.

Группа антраценпроизводных очень многочисленна, первые сведения о производных антрахинона в растительном сырье относятся к началу XX века, а к

настоящему времени описано уже более 700 [39, 46, 240, 269]. Многообразие антрахинонов обусловлено наличием в структуре от одного до восьми заместителей в α- и β-положениях колец А и С, природой и относительным расположением заместителей, разной степенью окисленности колец, также обнаружены восстановленные и димерные формы [309]. В связи с этим УФ-спектроскопия является достаточно информативной и позволяет определить к какой группе относится соединение, а также местоположение и характер заместителей (-OH, -OCH_3, - CH_3, - CH_2OH, -CHO, -COOH) [309]. По данным профессора Куркина В.А. в классификацию группы хинонов входят бензохиноны и нафтохиноны, которые отличаются от антрахинонов по своим спектральным характеристикам [154]. Бензохиноны содержат в своей структуре одно, а нафтохиноны два бензольных кольца. В УФ-спектре бензола наблюдается три полосы: 1 – при 180 нм, 2 – при 203 нм, 3 – самая длинноволновая с хорошо выраженной колебательной структурой в области 230-260 нм с максимумом поглощения при 256 нм, являющаяся наиболее характерной, так называемой полосой бензольного поглощения [154, 309]. Если в бензольной системе цепь сопряжения растет, то батохромный сдвиг полосы поглощения происходит тем больше, чем длиннее цепь сопряжения. В соединениях антрахинона происходит сдвиг полосы поглощения из УФ области в видимую и как результат – соединение приобретает окраску. Соответственно мономерные соединения антрахинонов имеют характерные максимумы поглощения в коротковолновой ~250 нм и длинноволновой ~360 нм области спектра. У димерных соединений наблюдается батохромный сдвиг полосы поглощения и максимумы находятся в ~360 нм и ~550 нм области спектра [154, 309]. Однако, учитывая разнообразие химической структуры антраценпроизводных, данные значения сильно варьируют в зависимости от местоположения и характера заместителей.

1.4.2.2. ИК-спектроскопия

ИК-спектроскопия широко используется для идентификации природных антрахинонов, установления их структуры, так как каждый тип замещения в структуре антрахинонов характеризуется определенным набором спектральных характеристик. ИК-спектроскопия позволяет идентифицировать функциональные группы, внутри- и межмолекулярные водородные связи, не прибегая к качественным реакциям и микроанализу. Гидрокси-группы в α- и β-положениях различаются областью поглощения, причем количество полос в каждой из этих областей соответствует количеству ОН-групп [309]. Можно обнаружить *о*-гидроксигруппы, образующие дополнительный цикл за счет водородных связей. По данным о поглощении карбонильных групп можно сделать выводы о положении заместителей в ядре антрахинона и об образовании внутримолекулярной водородной связи между этим заместителем и антрахиноновой карбонильной группой. Интегральная интенсивность полос является одной из важнейших характеристик ИК-спектров, которая может быть использована для идентификации окисленных и востановленных форм антрахинонов. При идентификации неизвестных антрахинонов используют некоторые характеристические особенности ИК-спектров:

- Одна полоса поглощения в области 1678-1683 $см^{-1}$ свидетельствует об отсутствии α-ОН-групп, в области 1608-1645 $см^{-1}$ – о наличии двух α-гидроксигрупп в 1,4- и 1,5-положениях, в области 1592-1616 $см^{-1}$ – о структуре с тремя α-гидроксилами, в области 1572-1592 $см^{-1}$ – о наличии 1,4,5,8-тетрагидроксизамещения [309].

- Структуры с одной α-ОН-группой имеют две полосы поглощения в областях 1647-1675 см-1 и 1621-1637 см-1 с разницей частот в 24-38 см-1, структуры с двумя α-ОН-группами в положениях 1 и 8 – 1661-1678 см-1 и 1616-1626 см-1 с разницей частот 40-57 см-1 [309].

- Антрахиноны, антроны и диантроны идентифицируют в интервале 1430-1695 см-1 по интенсивным полосам около 1670,1636 и 1625 см-1 соответственно, а

наличие двух максимумов в указанном интервале свидетельствует о присутствии диастереоизомеров, как например, у α-барбалоина (1632 и 1640 см-1), у алоинов А и В (1631 и 1638 см-1) [309].

- Размер углеводного цикла, тип связи с агликоном и между углеводными фрагментами определяют по характеру поглощения в области 800-900 и 1010-1100 см-1[309].

1.4.2.3. ЯМР-спектроскопия

ЯМР-спектроскопия является информативным методом для любого класса соединений, однако обращает на себя внимание то обстоятельство, что результаты систематических структурных исследований антрахинонов с использованием данного метода стали появляться сравнительно недавно и иногда носят противоречивый характер [309], а в случае некоторых антраценпроизводных они отсутствуют.

^{1}Н-ЯМР-спектроскопия позволяет четко определять наличие в молекуле антраценпроизводного соединения ароматической CH_3 при С-3 (трехпротонный синглетный сигнал при 2.38-2.43 м.д.), например, в структуре хризофанола, эмодина и др. В случае эмодина и его гликозидов характерными являются дублетные сигналы протонов Н-5 и Н-7 с константой спин-спинового взаимодействия (КССВ) 2.5 Гц при 7.45 м.д. и 6.55 м.д. соответственно. Кроме того, сигналы ароматических протонов при С-2 и С-4 (Н-4), как правило, обнаруживается в ЯМР-спектре в виде синглетных сигналов в области 7.00-7.45 м.д. В случае хризофанола, когда в молекуле имеется еще один ароматический протон (Н-6), характер сигналов Н-5 и Н-7 изменяется: они проявляются в виде двойных дублетов, а Н-6 обнаруживается в виде триплета в области 7.79 м.д. Данные ^{1}Н-ЯМР-спектра позволяют также четко обнаруживать ароматическую метоксигруппу в виде трехпротонного синглетного сигнала в области 3.8-4.0 м.д. Для антраценпроизводных, имеющих свободные гидроксильные группы при С-1 и С-8, характерным является наличие двух синглетных сигналов в области около 12.0 м.д. В случае же замещения (метилирование, гликозилирование и др.) ОН-

групп при С-1 и С-8 данные сигналы не обнаруживаются, что позволяет делать выводы о структурных особенностях молекулы. Весьма полезна ^{1}Н-ЯМР-спектроскопия и при изучении углеводной части антрагликозидов. Например, аномерный протон глюкозы в 8-О-β-D-глюкопиранозиде эмодина обнаруживается в виде дублетного сигнала с КССВ 7 Гц 5.13 м.д. В ^{1}Н-ЯМР-спектрах легко обнаруживаются рамнозиды: уширенный синглет Н-1^{1} рамнопиранозы при 5.60 м.д., а также трехпротонный синглетный сигнал при 1.14 м.д. с КССВ 6 Гц CH_3 рамнозы [309].

Метод ^{13}С-ЯМР-спектроскопии используют для доказательства строения углеродного скелета, при этом характерными являются сигналы резонанса углеродных атомов карбонильных групп, по изменению положения которых судят о характере α-, β-замещения (в отсутствие сигнала α-замещения сигнал прописывается около 178-182 м.д., при наличии экранирования – 186-192 м.д.) [309].

Сигналы других углеродных атомов в растворах $CDCl_3$ и ДМСО-d_6 прописываются следующим образом: $C_{1,4,5,8}$ – 132-136, $C_{2,3,6,7}$ в интервале 121-128, узловые С – около 113-134 м.д. [309]

Электродонорные заместители вызывают смещение сигналов соединенных с ними атомов углерода в слабое поле.

Однозначную информацию в ЯМР-спектрах получают при установлении тонкой структуры антрагликозидов, изомеров, в том числе оптических, характера С-С-связи в димерных и других конденсированных системах [309].

1.4.2.4. Масс-спектрометрия

Метод масс-спектрометрии используют для определения количественного состава сложных смесей, так же молекулярной массы, функционального и изотопного состава. В соответствии со структурой антрахиноновых молекул и характером замещения в них, в масс-спектрах проявляются характерные особенности фрагментации, такие как наличие сигнала молекулярного иона (M^+),

сигналов фрагментов (M^+ - OH, M^+ - CO, M^+ - HCO, M^+ - 2CO, M^+ - CH_3, M^+ - CH_2OH и др.) [309].

Для хризофанола, эмодина и фисциона диагностическими являются сигналы ионов M^+ - 15, а для алоэ-эмодина M^+ - 31, что соответствует наличию их в структуре CH_3 и CH_2OH-групп [309].

Для антраценовых гликозидов наиболее эффективным является масс-спектрометрический анализ метильных, ацетильных и триметилсилильных производных [309].

1.5. Хроматографические методы, используемые в исследовании и анализе лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные

Хроматографический метод был предложен в 1903 году русским ученым М.С. Цветом. Хроматографией называется метод разделения смесей веществ, основанный на их многократном перераспределении между двумя контактирующими фазами, одна из которых неподвижна, а другая имеет постоянное направление движения [18, 34, 40, 107, 237, 276]. По механизму, лежащему в основе разделения, различают адсорбционную, распределительную, ионообменную и другие виды хроматографии [30, 35, 100, 238, 239, 313]. Работы М.С. Цвета послужили фундаментом для развития остальных видов хроматографии для разделения как окрашенных, так и неокрашенных соединений, осуществляемых в любых средах.

В Государственной фармакопее России XIII издания (ОФС.1.2.1.2.0001.15, стр. 436-514) в разделе «Методы физического и физико-химические анализа» подробно описаны методы хроматографического анализа, в том числе механизмы разделения (адсорбционная, распределительная, ионообменная хроматография), способы хроматографического разделения (хроматография на колонках, бумаге, в тонком слое сорбента), обработка результатов и др. [55]. Отдельные статьи посвящены бумажной хроматографии (ОФС.1.2.1.2.0002.15), тонкослойной хроматографии (ОФС.1.2.1.2.0003.15), газовой хроматографии (ОФС.1.2.1.2.0004.15), высокоэффективной жидкостной хроматографии

(ОФС.1.2.1.2.0005.15) и сверхкритической флюидной хроматографии (ОФС.1.2.1.2.0001.15) [55].

Следует подчеркнуть следующие достоинства хроматографических методов:

- Разделение носит динамический характер, причем акты сорбции-десорбции разделяемых компонентов повторяются многократно. Этим обусловлена значительно большая эффективность хроматографического разделения по сравнению со статическими методами сорбции и экстракции.
- При разделении используют различные типы взаимодействия сорбатов и неподвижной фазы: от чисто физических до хемосорбционных. Это обуславливает возможность селективного разделения широкого круга веществ.
- На разделяемые вещества можно накладывать различные дополнительные поля (гравитационное, электрическое, магнитное и др.), которые, изменяя условия разделения, расширяют возможности хроматографии.
- Хроматография – гибридный метод, сочетающий одновременное разделение и определения нескольких компонентов.
- Хроматография позволяет решать как аналитические задачи (разделение, идентификация, определение), так и препаративные (очистка, выделение, концентрирование). Решение этих задач можно сочетать, выполняя их в режиме “on line”.

В ГФ России XIII издания и в отдельных фармакопейных статьях на ЛРС, содержащее антраценпроизводные, нашла широкое применение тонкослойная хроматография [57].

1.5.1. Тонкослойная хроматография

В ГФ России XIII издания ТСХ используется для идентификации следующего ЛРС, содержащего антраценпроизводные: «Жостера слабительного плоды» (ФС.2.5.0015.15), «Крушины ольховидной кора» (ФС.2.5.0021.15), «Сенны листья» (ФС.2.5.0038.15), «Щавеля конского корни» (ФС.2.5.0052.15) [57].

В данных статьях в качестве сорбента используется силикагель, при котором реализуется адсорбционный механизм разделения. Силикагель представляет собой

специально обработанный оксид кремния с высокой степенью полярности. Чаще всего используются пластинки «Silufol» (подложка - алюминиевая фольга, связующий компонент - крахмал), «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ». В роли подвижной фазы для анализа антраценпроизводных выступают различные системы растворителей: хлороформ – метанол - вода (например, 26:14:3), хлороформ – этанол - вода (26:16:3), н-бутанол - ледяная уксусная кислота – вода (4:1:5), этилацетат – спирт - вода (100:17:13), ледяная уксусная кислота – вода – этилацетат – пропанол (0,5:10:20:20) и др. [57].

В целях обнаружения антраценпроизводных используются физические и химические методы. Для обнаружения бесцветных веществ, в первую очередь, следует воспользоваться физическими методами, основанными на поглощении света и флуоресценции. На сегодняшний момент выпускаются хроматографические пластинки, в состав которых введен флуоресцентный индикатор. Соответственно если пятно не флуоресцирует, оно выглядит в виде темного пятна на светлом фоне. Антраценпроизводные являются окрашенными растворами, поэтому в основном визуализация осуществляется в видимом свете. Однако для уточнения природы антраценпроизводных требуются дополнительные способы диагностики.

Флуоресцировать в УФ-свете способно значительное количество веществ, полученные пятна имеют при этом различный оттенок. Для обнаружения флуоресцирующих веществ или веществ, поглощающих в УФ-области спектра, используют источники света с максимумами излучения в области 254 и 365 мкм. Для антраценпроизводных наиболее информативной является длина волны 254 нм, при которой антраценпроизводные хорошо диагностируются [309].

Метод ТСХ обладает рядом достоинств - это простота, экономичность, доступность оборудования, экспрессность (продолжительность разделения 10-100 мин), высокие производительность и эффективность разделения, наглядность результатов разделения и простота обнаружения хроматографических зон [18, 30, 40, 100, 276].

Для достоверной идентификации индивидуальных веществ используются Государственные стандартные образцы (ГСО), к сожалению, на антраценпроизводных нет ГСО, следовательно, используются либо рабочие стандартные образцы, либо определяют R_f и сравнивают данное значение с нормативной документацией на данное лекарственное растительное сырье. В результате хроматографического разделения на уровне пятна стандартного вещества должно обнаруживаться пятно анализируемого компонента экстракта, имеющее одинаковую флуоресценцию или окраску [35]. При этом в максимальной мере учитываются все факторы, определяющие результат хроматографирования. Данный метод менее надежен, так как более чувствителен к погрешностям эксперимента, однако используется довольно часто в связи с отсутствием стандартных образцов.

Для обнаружения веществ используются и химические методы, которые заключаются в обработке хроматограмм различными специфическими и неспецифическими реагентами (с использованием пульверизатора). Реакция происходит мгновенно либо после нагревания. При нагревании происходит или изменение окраски пятен, или появление/исчезновение флуоресценции, что необходимо для достоверной идентификации веществ [40, 107, 237,]. Обнаружение антраценпроизводных проводится раствором диазобензолсульфокислоты в насыщенном растворе натрия карбоната, антраценпроизводные обнаруживаются в виде пятен кроваво-красного цвета [309].

Для чистоты эксперимента необходимо предварительно подготовить хроматографические пластинки, их выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100-105 ºС в течение 1 ч. Обнаружение пятен проводят УФ-облучением (254 нм и 366 нм) до и после обработки свежеприготовленным раствором диазобензолсульфокислоты или другими реагентами [18, 34, 276].

1.5.2. Колоночная хроматография

В 1901 г. колоночную хроматографию (КХ) предложил российский ученый М. С. Цвет (основоположник метода хроматографии), которая и в настоящее время не утратила своей актуальности [72].

Колоночная хроматография широко используется для выделения, очистки, разделения и анализа антраценпроизводных, содержащихся в лекарственном растительном сырье. Силикагель, целлюлоза, полиамид, синтетические смолы, сефадекс LH-20 и т.д – используются в качестве сорбентов колоночной хроматографии. Каждому сорбенту свои системы растворителей, используемые в качестве подвижной фазы. В соответствии с элюотропным рядом по Шталю, на колонке с силикагелем используют различные растворители, начиная элюирование с наименее полярных растворителей, например, гексана, а затем переходят к более полярным элюентам, смешивая гексан с хлороформом (увеличивая долю последнего), затем элюируют чистым хлороформом, постепенно повышая полярность подвижной фазы увеличением доли полярного компонента, например, этилового спирта. При этом в гексане будут содержаться наиболее липофильные компоненты растительного экстракта, наилучшим образом растворимые в гексане, а в этаноле - наиболее полярные его компоненты [55, 72, 272, 284, 330].

Для колонки с полиамидом, представляющим собой чаще всего поликапролактам (капрон), более характерны другие условия: элюирование начинают водой, а заканчивают через промежуточные концентрации этиловым спиртом. При этом в водных элюатах содержатся наиболее полярные вещества (полисахариды, сахара, гликозиды терпеноидов и простых фенолов с одной свободной ароматической гидроксильной группой, триозиды флавоноидов и др.), а в водно-спиртовых и этанольных - менее гидрофильные (агликоны антраценпроизводных и других полифенольных соединений). В дальнейшем проводят анализ фракций общепринятыми физико-химическими методами

(ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ и др.), а также подвергают их очистке путем рехроматографии и (или) перекристаллизации [55, 72, 272, 284, 330].

1.5.3. Хроматография на бумаге

Метод восходящей хроматографии на бумаге применяют с использованием двух типов растворителе: смесей спиртов с кислотами и водой для анализа и разделения гликозидов и малополярные растворители – для анализа агликонов. Хроматограммы просматривают в УФ свете; при этом агликоны светятся желтым или оранжевым, антроны, антранолы и диантроны – желто-зеленым, гликозиды – розовым или оранжевым цветом, димеры – от соломенно-желтого до светло-коричневого [55, 272, 284, 330].

В зависимости от степени окисленности колец в соединении, количества, природы и взаимного расположения заместителей подвижность антрахиноновых производных на бумаге и в тонком слое сорбента различна: чем больше заместителей в структуре, тем меньше величина R_f. Гидроксигруппы в β-положениях снижают величину R_f в малополярных растворителях. Метилирование и ацетилирование α-гидроксигрупп приводит к снижению R_f (по сравнению с соответствующими α-гидроксипроизводными), аналогичные производные β-гидрокси-антрахинонов имеют более высокие значения R_f. У антрахинонов R_f ниже, чем у соответствующих антрахинонов, что объясняется, по-видимому, возможностью их енолизации [55, 272, 284, 330].

Вследствие образования внутри- и межмолекулярных водородных связей, а так же из-за легкой окисляемости восстановленных форм антрахинонов на хроматограммах возможно образование «хостов», искажение формы пятен или их раздвоение; в таких случаях антраценовые производные рекомендуется хроматографировать в бескислородной атмосфере. При разделении смеси веществ, близких по структуре или изомерных, иногда используют прием предварительной припитки бумаги спиртами, водными спиртами, формамидом, диметилформамидом, бензолом, анилином, содой, щавелевой кислотой и другими растворителями [55, 272, 284, 330].

При хроматографировании на бумаге большое значение имеет ее качество. На «быстрой» бумаге пятна вещества иногда имеют вытянутую форму или «фасолеобразную» форму с двумя четкими центрами, что часто ошибочно истолковывается как смесь двух веществ. При такой форме пятен полезно сопоставить несколько хроматограмм на разных сортах бумаги в одном и том же растворителе. Для разделения антраценпроизводных используют различные системы растворителей: бензол; толуол; пентан; бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5); амиловый спирт, насыщенный водой; бутанол, насыщенный водой; петролейный эфир, насыщенный метанолом; пропанол-этилацетат-вода (5:3:3); циклогексан-октанол-метанол (90:9:1); толуол-циклогексан-пропанол-бутанол (10:50:7,5:2,5); бензол-ацетон-вода (4:1:2); этилацетат-муравьиная кислота-вода (10:2:3); петролейный эфир-толуол-ксилол-метанол (4:1:1:1) [309].

При хроматографировании в системе *н*-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5) значения R_f антранолов ниже, чем у антрахинонов и антронов, а пятна диантронов располагаются ниже соответствующих диантранолов. Наиболее четкое разделение названных производных наблюдается при использовании этой смеси растворителей в соотношениях 40:13:29 и 40:12,5:29 [309].

Хризофановую кислоту и фисцион удается разделить лишь в единичных случаях, например на бумаге, пропитанной бикарбонатом натрия в 78% этаноле. Разделить этим методом хризофановую кислоту и эмодин невозможно, так как их R_f совпадают. Если в качестве растворителя использовать бензол или толуол, то хризофановая кислота и фисцион движутся с фронтом растворителя, эмодин имеет среднее значение R_f, а гликозиды и димеры остаются на старте. Разделение хризофановой кислоты и фисциона возможно в пентане; эмодин и гликозиды при этом остаются на старте. Вместо пентана можно использовать петролейный эфир или циклогексан. При добавлении к последним даже небольших количеств бензола, метанола или хлороформа разделение хризофанола и фисциона уже не происходит. Можно использовать бензол (до половины хроматограммы), а затем, высушив, хроматографировать в этом же направлении в пентане. Музычкиной Р.А. предложена методика бумажной хроматографии: отделить небольшое количество

фисциона на бумаге, пропитанной раствором бикарбоната натрия, в 60% этаноле, а небольшие количества – дробной обработкой раствора 1%, 3%, 5% растворами бикарбоната натрия [309]. Полученные содовые извлечения помимо фисциона содержат также эмодин; после выделения их разделяют на колонках с силикагелем, элюируя петролейным эфиром и бензолом.

Для разделения эмодина, франгулина и глюкофрангулина пригодна смесь бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5) и насыщенный водой бутанол [309].

Антрахиноны и соответствующие им антроны хорошо разделяются на бумаге в системе хлороформ-петролейный эфир (7:3) или в тонком слое силикагеля в системе ацетон-тетрахлорид углерода (4:1) [309].

Разделение антрахинонов, антронов и гетеродиантронов возможно обработкой эфирного экстракта растений бикарбонатным раствором с последующим хроматографированием на бумаге, пропитанной спиртами или формамидом, а также методом последовательной обработки экстрактов растворителями различной полярности [309].

Сеннозиды разделяют на бумаге, обработанной содой, в 70%этаноле или без обработки в системе толуол-метанол (2:1); хризофанол и фисциоантроны – на бумаге в гептане. Антроны удобно разделять обработкой экстракта или растворением навески веществ в 0,1% пиридиновом растворе *n*-нитрозодиметиланилина с последующим хроматографированием на пластинках с силикагелем в системе этилацетат-метанол-вода (100:17:13) [309].

1.5.4. Высокоэффективная жидкостная хроматография

В настоящее время ВЭЖХ по темпам развития вышла на первое место среди инструментальных методов. Важнейшее преимущество ВЭЖХ— возможность исследования практически любых объектов без каких-либо ограничений по их физико-химическим свойствам, например, по температурам кипения или молекулярной массе.

На сегодняшний момент ВЭЖХ является одним из универсальных методов, который используется и для идентификации антраценпроизводных (по времени

удерживания и другим характеристикам), и для количественного определения целевых веществ в субстанциях, лекарственных препаратах и ЛРС. Несмотря на информативность данного метода, он недостаточно широко используется в плане стандартизации лекарственного растительного сырья и препаратов, содержащих антраценпроизводные. В Государственной Фармакопее Российской Федерации XIII издания метод ВЭЖХ для лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, не нашел своего отражения. Перспективы использования ВЭЖХ для целей стандартизации сырья и препаратов сенны александрийской и марены красильной обсуждаются в главе [55].

Высокоэффективная жидкостная хроматография (жидкостная хроматография высокого давления) – это метод колоночной хроматографии, в котором подвижной фазой служит жидкость, движущаяся через хроматографическую колонку, заполненную неподвижной фазой (сорбентом). Колонки для ВЭЖХ характеризуются высоким гидравлическим сопротивлением на входе. В зависимости от механизма разделения веществ различают следующие варианты ВЭЖХ: адсорбционную, распределительную, ионообменную, эксклюзионную, хиральную и др. Для разделения антраценпроизводных используют адсорбционную хроматографию, где разделение веществ происходит за счет их различной способности адсорбироваться и десорбироваться с поверхности сорбента. В зависимости от типа подвижной и неподвижной фазы различают нормально-фазовую и обращенно-фазовую хроматографию. Для разделения антраценпроизводных используется обращенно-фазовая хроматография, в которой неподвижная фаза – неполярная (гидрофобные силикагели с привитыми группами С4, С8, С18 и др.); подвижная фаза – полярная (смеси воды и полярных растворителей: ацетонитрила, метанола, тетрагидрофурана и др.). Удерживание веществ растет с увеличением их гидрофобности (неполярности). Чем больше содержание органического растворителя, тем выше элюирующая способность подвижной фазы [55, 272, 284, 330].

ВЭЖХ успешно применяется как для качественного, так и для количественного анализа лекарственных средств в испытаниях «Подлинность», «Посторонние примеси», «Количественное определение». В результате проведения ВЭЖХ зоны выделяемых веществ выходят из колонки, поступают в детектор и регистрируются как пики. Вся кривая, которую регистрирует детектор от момента ввода пробы в колонку до полного элюирования последнего компонента пробы, называется хроматограммой. Основные характеристики обработки хроматограмм являются время выхода вещества, вышина и площадь пика [55, 272, 284, 330].

В настоящее время высокоэффективные жидкостные хроматографы оснащены соответствующим программным обеспечением, которое позволяет осуществлять контроль за хроматографическим разделением веществ анализируемых экстрактов на мониторе компьютера с последующей распечаткой на принтере результатов обсчета качественного и количественного анализа образцов. Хотя ВЭЖХ на данный момент используется достаточно редко, тем не менее их потенциальные возможности позволяют решить все задачи фитохимического анализа, то есть доказать подлинность ЛРС по наличию тех или иных специфических компонентов, выявить отсутствие или допустимое содержание примесей, провести количественное определение наиболее значимых компонентов или их суммы.

1.6. Фармакологические свойства антраценпроизводных фармакопейных растений

Препараты, содержащие производные антрахинона (кора крушины ломкой, плоды жостера слабительного, листья сенны александрийской, корни щавеля конского, корни ревеня тангутского, корни марены красильной, листья и побеги алоэ), входят в группу слабительных средств растительного происхождения [1, 4, 8, 37, 42, 47, 48]. Антрахиноны представляют собой гликозиды, почти не связывающиеся с рецепторами в тонком кишечнике. В толстом кишечнике под воздействием микроорганизмов происходит отщепление сахара от молекулы

антрахинона и восстановление ее до свободного антрона или антранола, которые и являются действующими веществами. Они оказывают свое действие непосредственно в толстом кишечнике на секрецию и перистальтику (на тонкий кишечник они практически на влияют). Под воздействием антрахинонов усиливается перистальтика толстого кишечника (прежде всего в области Colon transversum), при этом сокращается время прохождения каловых масс [6, 88, 90, 134, 157, 158, 175, 186, 200].

Препаратами на основе лекарственного растительного сырья, которые содержат антраценпроизводные, следует проводить курсы лечения при хроническом запоре вследствие гипотонии толстой кишки («атонический запор»), действующими преимущественно на перистальтику толстой кишки. Эти же слабительные назначают при кратковременном запоре, например, в период выздоровления посте инфекционного заболевания, при вынужденном постельном режиме. Данные препараты назначают внутрь в качестве мягко действующих слабительных средств, эффект которых наступает через 8-10 часов после приема [32, 60, 177, 178, 187, 189, 201, 205, 206, 207].

Кора крушины входит в состав потогонных, ветрогонных сборов, а также в сборы для лечения дисменореи, меноррагий и для нормализации дефекации. Препараты на основе коры крушины в Литве и Республике Беларусь применяют при малярии, а в Болгарии – при нервных болезнях, неврозах, ожирении, сахарном диабете, уратных артритах, экссудативном диатезе, экземе, ревматизме, а кроме того, в сборах – при кожных заболеваниях с нарушением обмена веществ. Плоды крушины – антигельминтное средство. Семена крушины – в эксперименте проявляют активность в отношении лейкемии [49, 229, 231, 256, 258, 267, 293, 294, 303, 315, 329].

Кора жостера слабительного в народной медицине применяется в виде отвара при язвенной болезни желудка, наружно в виде компрессов – ранозаживляющее. Кора, листья, плоды жостера слабительного в народной медицине в виде отвара применяются при гипоацидном гастрите, дерматомикозе. Плоды жостера слабительного в виде отвара и настоя применяется как

слабительное средство для лечения хронических, атонических и спастических запоров, трещин прямой кишки, при нарушении моторики кишечника у женщин в климактерический период, а также при асците, подагре, хронических кожных заболеваниях, гастритах, атонии кишечника, геморрое, гепатите, респираторных инфекциях. Плоды жостера слабительного использовались при дерматомикозах и как противораковое средство, а спиртовое извлечение - при ревматизме. Сок – сильнодействующее слабительное и диуретическое, при дерматитах [59, 204, 216, 227, 268, 333, 336, 337].

Ревень тангутский в малых дозах назначают в качестве вяжущего средства, уменьшающего перистальтику кишечника [177]. Это объясняется действием гидролизуемых дубильных веществ (танин). В больших дозах действуют антрагликозиды, усиливающие перистальтику кишечника. Малые дозы порошка ревеня улучшают аппетит, регулируют деятельность желудка, особенно показаны при катаре желудка, кишечника, диспепсии; средние дозы действуют как желчегонное; большие — как нежное слабительное при атонии кишечника, спастических запорах, запорах у детей и беременных, для размягчения стула при геморрое и трещинах прямой кишки. Из корней ревеня получен препарат хризаробин, предложенный для лечения псориаза. В ряде западноевропейских стран ревень используется в сборах для похудания [177, 221, 154, 176, 200].

Алоэ древовидное в первую очередь является слабительным средством. Такие препараты выпускаются в пилюлях, каплях, драже и мазях [49]. По мнению врачей алоэ также используется при лечении заболеваний ЖКТ (колит и др.), болезней глаз и для стимуляции секреции желчи в желчном пузыре [177, 202, 224, 234].

Антрацены – ведущая группа биологически активных соединений листьев сенны остролистной [154]. Помимо антраценов, содержатся флавоноиды, представленные производными кемпферола и изорамнетина [57, 272, 284, 330]. Кроме того, в сырье в больших количествах содержатся смолы, оказывающее раздражающее действие на слизистую кишечника, вызывая колики. Содержащиеся в препаратах кассии узколистной вещества обусловливают антитоксические и

слабительные свойства. Это обусловлено присутствием антрагликозидов, которые вступая в реакцию с содержимым желудка, вызывают усиление моторики мышц кишечника и толстой кишки. Ценность препаратов кассии еще и в том, что воздействие на перистальтику происходит медленно, в течение 4-6 часов после приема препарата, а также тем, что препараты кассии не вызывают болей и неприятных ощущений в желудке. Еще одно преимущество кассии узколистой, или как ее еще называют – сенна, или александрийский лист в том, что препараты не вступают в реакцию с желчью в желудке, поэтому могут применяться больными с нарушениями функции печени и желчного пузыря [96, 103, 122, 173, 174, 280, 301, 337].

Корни щавеля конского применяют в основном в виде водных извлечений для лечения колитов, энтероколитов, дизентерии, геморроя, трещинах заднего прохода, в качестве противовоспалительного и кровоостанавливающего средства (при поносах, кровохаркании, кровоточащих язвах, геморрое и др.), а также для полосканий при воспалительных заболеваниях полости рта и глотки (ангина, стоматит и др.) [81, 134, 160]. В малых дозах препараты обладают вяжущими свойствами, в больших дозах проявляют слабительное действие (дозозависимый эффект), которое проявляется через 8-12 часов. Наружно отвар корней рекомендуют для ванн и обмываний при различных кожных заболеваниях (псориаз, чесотка, кожный зуд и др.) [260, 269].

Корни и плоды щавеля конского стимулируют мышцы толстого кишечника, способствуя выведению фекальных масс, плоды оказывают вяжущее, бактерицидное и противовоспалительное действие [177]. Свежие листья растения – поливитаминное и ранозаживляющее действие. В зависимости от дозы корни растения оказывают вяжущее (закрепляющее) или слабительное действие. При длительном применении может наступить привыкание к препарату, поэтому следует чередовать назначение корней щавеля с другими препаратами слабительного действия. Кроме этого, корни щавеля конского обладают противогнилостным, противоцинготным и кровоостанавливающим свойствами. В виде отвара и экстракта используется при лечении колитов, энтероколитов и

гемоколитов, при запорах на почве атонии кишечника, геморрое, трещинах заднего прохода. Отвар из плодов конского щавеля применяется при диспепсиях и дизентерии совместно со специфическими средствами. Настой соцветий рекомендуют при поносе, дизентерии, наружно используют корни, плоды щавеля конского для лечения туберкулеза и различных кожных болезней, отвар плодов в виде компрессов используют при язвах, гнойных ранах и ожогах, свежие листья прикладывают к гнойным ранам [36, 47, 90, 96, 165].

Применяют препараты конского щавеля обычно в комплексной терапии или как вспомогательное средство в смеси с лекарственными растениями в виде сборов. Сырье входит в состав сбора М.Н. Здренко. Используется в виде настоя, отвара, экстракта для лечения колитов, энтероколитов и гемоколитов, при геморрое, трещинах заднего прохода, как противогнилостное, противоцинготное и кровоостанавливающее средство. В виде порошка - при малокровии и как средство, регулирующее работу желудочно-кишечного тракта [49, 60, 177].

В китайской медицине отвар корня применяют в качестве слабительного, сырой измельченный корень или отжатый из него сок - наружно при заболеваниях кожи [103]. В Германии отвар корня применяется при раздражении зева, гортани, катаре верхних дыхательных путей, при кашле, насморке, фронтите, головной боли (в виде растираний свежим соком или в виде экстракта) [103].

В отечественной народной медицине водные извлечения из конского щавеля применяется при цинге, язвенных стоматитах, гингивитах [104].

Препараты корней марены красильной обладают диуретическими свойствами, усиливают перистальтику мускулатуры почечных лоханок и мочеточников, способствуя продвижению камней. Корни марены обладают способностью разрыхлять и разрушать камни почек и мочевого пузыря, поэтому средства на основе сырья марены применяются при мочекаменной болезни. В народной медицине издавна применялся порошок и настой из корней марены красильной как средство для растворения и выделения из организма камней почек и мочевого пузыря [154, 166, 205, 206, 207, 231].

1.6.1. Ограничения и противопоказания к применению препаратов, содержащих антрахиноны

Производные антрацена, занимающие первое место по частоте развития «болезни слабительных средств», вызывают поражения слизистой оболочки прямой и ободочной кишок, которые при эндоскопическом исследовании характеризуются как меланоз слизистой оболочки толстого кишечника [70, 71, 161, 208, 228].

Меланоз вызывает отложение меланина или пигмента типа липофусцина и является доброкачественным и обратимым процессом. Существование такой пигментации весьма характерно для длительного приема производных антрахинона и позволяет предполагать их прием, даже если это отрицается больным [70, 71, 161, 208, 228].

Под воздействием антрахинонов выведение ионов калия в толстой кишке увеличивается почти в 10 раз. В результате происходит значительное смещение равновесия электролитов в организме. Гипокалиемия способствует возникновению запора. Гипонатриемия, гиповолемия, гипотония и гипокалиемия считаются адекватными стимулами синтеза и высвобождения ренина. Высокая активность ренина приводит к вторичному гиперальдостеронизму, который также усиливает гипокалиемию. Следствием этого являются возрастающая атония кишечника, которая побуждает больных применять более высокие дозы слабительных средств [70, 71, 161, 208, 228].

Гипокалиемия может стать причиной возникновения калиопенической нефропатии (ложный синдром Бартера). Такое течение болезни развивается довольно часто. Каждый случай неясной причины гипокалиемии, сопровождающийся гипотонией и мышечной слабостью, должен приводить к мысли о расстройстве электролитного баланса, необходимости сбора анамнеза и осторожности при диагностике. Это наблюдается преимущественно у женщин в период менопаузы. В этом случае обязательно прекращение приема слабительных средств [70, 71, 161, 208, 228].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. Исходя из данных Государственного реестра список зарегистрированных на территории РФ препаратов на основе лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, достаточно представителен, хотя реальный ассортимент, представленный в аптеках, сводится к лекарственному растительному сырью, сборам и многокомпонентным препаратам. Несмотря на разнообразие в данной группе сырья лекарственных растений, произрастающих на территории РФ, на фармацевтическом рынке преобладают импортные лекарственные препараты на основе сырья сенны александрийской, культивируемой за рубежом.

2. Фармакологические свойства антраценсодержащих фармакопейных растений обусловлены не только антрагликозидами, но и другим группами БАС – флавоноидами (сенна александрийская, жостер слабительный), дубильными веществами (ревень тангутский, щавель конский), производными нафталина (сенна александрийская, щавель конский). Именно сочетание вышеперечисленных групп действующих веществ, с одной стороны, привносит наряду со слабительным эффектом противовоспалительные, вяжущие, желчегонные, противоязвенные, диуретические, камнеразрыхляющие и другие свойства, а с другой, объясняет причину широко применения обсуждаемых видов лекарственных растений для лечений заболеваний ЖКТ, гепатобилиарной системы, почек и мочевыводящих путей.

3. Сравнительный подходов к стандартизации сырья фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные, свидетельствует о том, что во многих случаях в разделе «Качественные реакции» не предусмотрено использование ТСХ и анализ осуществляется с использованием пробирочных реакций. Кроме того, используемые в разделе «Количественное определение» методики количественного определения суммы антраценпроизводных, как правило, громоздки, многостадийны и недостаточно специфичны в силу отсутствия научно обоснованных стандартных веществ.

4. Опыт использования новых инструментальных возможностей (ЯМР-спектроскопия, ВЭЖХ, ГЖХ, хромато-масс-спектрометрия и др.) создает предпосылки для более глубоких структурных исследований антраценпроизводных, а также совершенствования методов стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, содержащих антраценпроизводные. В этом отношении наибольшего внимания заслуживают такие виды лекарственного растительного сырья, как листья и плоды сенны александрийской, корни марены красильной.

5. Принимая во внимание то обстоятельство, что в ассортименте слабительных лекарственных растительных средств, представленных на фармацевтическом рынке РФ, преобладают зарубежные средства, актуальным является создание импортозамещающих препаратов слабительного действия. Успешное решение этой проблемы будет способствовать реализации Стратегии развития фармацевтической отрасли Российской Федерации до 2020 г., а также Стратегии лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 г.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

В ходе диссертационного исследования использовались:

1. Образцы коры крушины ломкой (*Frangula alnus* Mill.), собранные в период сокодвижения (апрель-май, 2014-2016 гг.) на фармакопейном участке Ботанического сада г. Самара.
2. Образцы плодов жостера слабительного (*Rhamnus cathartica* L.), собранные в период плодоношения (август-сентябрь, 2014-2016 гг.) в Оренбургской области, г. Бузулук, близ реки Сакмара.
3. Гербарные образцы кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии Оренбургского государственного медицинского университета, двухгодичные побеги сенны александрийской (*Senna alexandrina* Mill.).
4. Образцы корней марены красильной (*Rubia tinctorum* L.), заготовленные в сентябре 2015 г. в Краснодарском крае.
5. Образцы плодов сенны александрийской (*Senna alexandrina* Mill.), собранные в период плодоношения (октябрь, 2014 г.) в Индии.
6. Образцы коры крушины ломкой (*Frangula alnus* Mill.) различных производителей: ОАО «Красногорсклексредства»; ООО ПКФ «Фитофарм».
7. Образцы плодов жостера слабительного (*Rhamnus cathartica* L.) производителя: ООО «Лето».
8. Образцы листьев сенны александрийской (*Senna alexandrina* Mill.) различных производителей: «Vitaflor»; ОАО «Красногорсклексредства»; ООО «ФитоСтарт»; ООО «СТ-Медифарм», ООО «Алтайский кедр».

9. Образцы корней марены красильной (*Rubia tinctorum* L.), собранные в Краснодарском крае (март, 2015 г.).
10. Образцы фиточая «Тростинка», производитель - ЗАО Фирма «Здоровье».
11. Образцы чайного напитка «Сибирская ласточка экстра», производитель - ООО «Алтайский кедр».
12. Образцы чайного напитка «Аэлит», производитель - ИП Плескачев.
13. Образцы чайного напитка «Фаворит», производитель - ИП Плескачев.
14. Образцы чайного напитка «Эффект», производитель - ИП Плескачев.
15. Образцы чайного напитка «Комфорт», производитель - ООО «Травы Башкирии».
16. Образцы чайного напитка фирмы «Lux», производитель - ООО НПФ «Золотая долина».
17. Образцы чайного напитка «Слабительный», производитель - ООО «Травы Башкирии».
18. Образцы чайного напитка «Для похудения», производитель - ООО «Травы Башкирии».
19. Образцы лекарственного препарата «Сенаде», производитель - «Д-р Редди'с Лабораторис Лтд.».
20. Образцы лекарственного препарата «Сенадексин», производитель - ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье».
21. Образцы лекарственного препарата «Крушины экстракта таблетки», производитель - ЗАО «Вифитех».

Объектами исследования служили также лекарственные формы (настои, отвары), экстракционные препараты (настойки, жидкие экстракты, сухие экстракты), полученные фармакопейными методами.

Зависимости спектральных характеристик и фармакологических свойств антраценпроизводных изучены с использованием индивидуальных веществ, выделенных из исследуемых видов ЛРС: франгулин А (6-О-α-L-рамнопиранозид франгула-эмодина), франгулин В (6-О-β-D-апиофуранозид франгула-эмодина), франгула-эмодин, или эмодин (1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон), 1-О-β-D-

глюкопиранозид эмодина, 8-О-β-D-глюкопиранозид эмодина и 3-О-рутинозид рамнетина (3,5,3^1,4^1-тетрагидрокси-7-метоксифлавон), 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона, кемпферол-3-О-гентиобиозид, неореин (1,7-дигидрокси-3-карбокси-антрахинон), сеннозид В, руберитриновая кислота [76, 77, 84, 86, 119, 120, 129, 152, 156, 254].

Сравнительное изучение слабительных свойств осуществляли с использованием индивидуальных соединений (франгулин А, франгулин В, сеннозид В), а также различных субстанций (настои, отвары, сиропы, густые экстракты) крушины ломкой (*Frangula alnus* Mill.), жостера слабительного (*Rhamnus cathartica* L.), сенны александрийской (*Senna alexandrina* Mill.), марены красильной (*Rubia tinctorum* L.) [119, 120, 129, 152, 156, 254]. В качестве препаратов сравнения использовали чайные напитки «Тростинка», «Сибирская ласточка экстра», «Аэлит», «Фаворит», «Эффект», «Комфорт», «Lux», «Слабительный», «Для похудения», лекарственные препараты: «Сенаде», «Сенадексин», «Крушины экстракта таблетки» [141, 142, 143, 144, 153, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250].

Полученные препараты были подвергнуты фармакологическому изучению.

Экстракция осуществлялась спиртом этиловым с концентрацией 96%, 95%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%. Кроме того, использовались вода очищенная, хлороформ, гексан, ацетон, вата гигроскопическая, фильтры с красной полосой [119, 120, 129, 152, 156, 254].

При работе методом колоночной хроматографии в качестве сорбентов нами были использованы: силикагель L 40/100 и L 100/160; полиамид марки «Woelm» (Германия); сефадекс LH - 20 (Швеция).

2.2. Методы исследования

2.2.1. Анатомо-морфологическое исследование некоторых видов фармакопейного сырья антраценсодержащих растений

Анатомо-морфологическое исследование ЛРС «Сенны александрийской листья», «Сенны александрийской плоды» и «Марены красильной корни» осуществляли с использованием цифрового микроскопа Motic DM111 (возможность увеличения прибора представлена четырьмя окулярами: 4x10; 10x10; 40x10; 100x10) и цифрового стереоскопического микроскопа Motic DM-39C-N9GO-A (возможность увеличения прибора представлена двумя окулярами: x 20; x 40).

Объектами настоящего исследования служили образцы листьев сенны александрийской различных производителей: «Vitaflor»; ОАО «Красногорсклексредства»; ООО «ФитоСтарт»; ООО «СТ-Медифарм», ООО «Алтайский кедр». В качестве объекта исследования служили также образцы плодов сенны александрийской, собранные в период плодоношения (октябрь, 2014 г.) в Индии. Кроме того, исследовали анатомическое строение корней марены красильной, собранные в Краснодарском крае (март, 2015 г.).

Образцы для исследования были заготовлены по общим правилам [2, 197], после чего от них отделялись различные части, необходимые для исследования. Сырье для изучения микроскопических и макроскопических признаков готовилось как по фармакопейной методике, так и с использованием собственных модифицированных подходов, предложенных для проведения анатомо-морфологического исследования.

Приготовление микропрепаратов осуществляли в соответствии с методиками, описанными в ГФ СССР XI издания, ГФ РФ XIII издания и других литературных источниках [23, 52, 56, 68, 171, 184]. Для приготовления микропрепаратов листьев сенны александрийской использовали стандартную методику из ГФ РФ XIII издания (ОФС.1.5.3.003.15). Брали цельные листья или кусочки пластинки листа с краем и жилкой, кусочки листа от основания и

верхушки, кусочки черешка. Несколько кусочков сырья поместили в колбу, прибавили раствор натрия гидроксида 5%, разведенный водой (1:1), и кипятили в течение 2-3 мин в зависимости от толщины и плотности объекта, не допуская сильного размягчения. Затем содержимое перелили в стеклянный стакан, жидкость слили через 2-4 слоя марли, которой закрыли стакан, и сырье тщательно промыли водой, каждый раз сливая воду через ту же марлю. Содержимое стакана перенесли в небольшом количестве воды в чашку Петри. Частички сырья, оставшиеся на марле, смыли в ту же чашку Петри. Из воды кусочки вынули скальпелем и поместили на предметное стекло в каплю раствора хлоралгидрата. После просветления кусочки сырья поместили на предметное стекло, разделили скальпелем на две части, одну из них осторожно перевернули. Тонкий черешок раздавили скальпелем для высвобождения эпидермиса. Объект накрыли покровным стеклом, слегка сверху придавили чистым обратным концом препаровальной иглы и слегка подогрели до удаления пузырьков воздуха, после охлаждения рассмотрели лист с обеих сторон и эпидермис черешка под микроскопом при указанных выше увеличениях [56].

Для приготовления микропрепаратов плодов сенны александрийской использовали стандартную методику из ГФ XIII издания (ОФС.1.5.3.003.15). Плоды сенны александрийской кипятили в пробирке в растворе натрия гидроксида 5% в течение 2-3 минут и тщательно промыли водой. Объект поместили на предметное стекло, препаровальными иглами отделили кожуру семени или ткани околоплодника и рассмотрели их в растворе хлоралгидрата. Ткани мезокарпия и эндокарпия рассмотрели в давленом препарате и на срезе. Давленые препараты получили при использовании обратного конца препаровальной иглы путем надавливания на объект в заключающей среде на предметном стекле. Объект накрыли покровным стеклом, слегка сверху придавили чистым обратным концом препаровальной иглы и слегка подогрели до удаления пузырьков воздуха, после охлаждения рассмотрели под микроскопом при указанных выше увеличениях [56].

Для приготовления микропрепаратов корней марены красильной использовали стандартную методику из ГФ РФ XIII издания (ОФС.1.5.3.003.15).

Готовили поперечные и продольные срезы. Небольшие куски подземных органов помещали в холодную воду и выдерживали около 1 суток, затем помещали в смесь этилового спирта 95% и глицерина (1:1) на 3 суток. Размоченные объекты выравнивали скальпелем так, чтобы они имели строго поперечное или продольное сечение. Делали срезы и готовили микропрепараты в растворе хлоралгидрата и рассматривали анатомо-диагностические признаки при указанных выше увеличениях [56].

2.2.2. Химические методы

2.2.2.1. Качественные реакции

Для обнаружения в ЛРС различных групп БАС, а также для определения химической природы индивидуальных веществ использованы следующие качественные реакции [50, 52, 235]:

1. Реакция образования солей (на антраценпроизводные)

А) Реакция на цельном сырье: при смачивании внутренней поверхности коры крушины ломкой 1-2 каплями 10% раствора натрия гидроксида наблюдается кроваво-красное окрашивание [50, 52].

Б) Реакция с водяным извлечением (1:10): при добавлении к водному извлечению из коры крушины ломкой нескольких капель 10% раствора натрия гидроксида образуется вишнево-красное окрашивание [50, 52].

2. Реакция Борнтрегера (на антраценпроизводные)

Порошок в количестве от 1-0,5 г кипятят несколько минут с 10 мл 10% спиртового раствора натрия гидроксида и фильтруют. По охлаждении фильтрат подкисляют разведенной кислотой хлористоводородной до слабокислой реакции и прибавляют 10 мл диэтилового эфира; эфирный слой окрашивается в желтый цвет; 5 мл эфирного извлечения взбалтывают с 5 мл раствора аммиака, последний окрашивается в вишнево-красный цвет (эмодины), эфирный слой остается окрашенным в желтый цвет (хризофанол) [50, 52, 235].

3. Реакция микровозгонки (на антраценпроизводные).

При микровозгонке порошка коры крушины ломкой на холодном часовом стекле и стенках пробирки образуется желтый кристаллический налет, который от прибавления 10% спиртового раствора натрия гидроксида приобретает вишнево-красное окрашивание [50, 52, 235].

4. Реакция комплексообразования.

Реакция со спиртовым извлечением (1:10): при добавлении к спиртовому извлечению спиртового раствора магния ацетата появляется красно-оранжевая окраска, что свидетельствует о наличии 1,8-диоксипроизводных в спиртовом извлечении [50, 52, 235].

2.2.2.2. Кислотный гидролиз

0,05 г измельченного сырья нагревают с 7,5 мл ледяной уксусной кислоты на водяной бане в течение 15 мин. Полноту гидролиза контролируют ТСХ. Из охлажденной реакционной смеси отфильтровывают кристаллы агликона через взвешенный стеклянный фильтр, а в случае некристаллического агликона его извлекают из кислотного гидролизата хлороформом. Водный раствор упаривают в вакууме и используют для идентификации углевода методом БХ [309].

2.2.2.3. Ферментативный гидролиз

5 мг 1-O-β-D-глюкопиранозида эмодина и 8-O-β-D-глюкопиранозида торахризона термостатируют в течение 24-48 часов с 1 мг β-глюкозидазы («Serva»). Из гидролизата агликон выпадает в осадок, отделяют и анализируют его методом ТСХ, масс-спектрометрии и другими методами, а в водном растворе методом БХ идентифицируют углевод (глюкоза) [309].

2.2.3. Хроматографические методы

В исследованиях использованы методы тонкослойной хроматографии, колоночной хроматографии, хроматографии на бумаге, или бумажной хроматографии, а также высокоэффективной жидкостной хроматографии [51, 55, 334].

2.2.3.1. Тонкослойная хроматография (ТСХ)

Для тонкослойно-хромаграфического анализа спирто-водных извлечений из сырья фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды и выделенных соединений использовали пластинки «Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» и «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» (Россия). Система растворителей: 1-5:

1 - хлороформ-метанол-вода, 26:14:3;
2 - хлороформ-метанол, 6:1;
3 – хлороформ-этанол, 9:1;
4 – хлороформ-этанол, 19:1;
5 - хлороформ-этанол-вода, 26:16:3.

Подготовку хроматографических пластинок осуществляли следующим образом: пластины «Silufol UV-254» 15х15 см, «Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» или «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» (ТУ 26-11-89) разрезают поперек линий накатки на 3 части размером 15х5 см или 2 части 10 см х 5 см [18, 35, 51, 100, 327].

Хроматографические пластинки предварительно выдерживали в сушильном шкафу при температуре 100-105 ^{o}C в течение 1 ч. Хроматографическую камеру насыщали парами растворителей в течение 24 ч. Анализ проводили при комнатной температуре, фронт прохождения растворителя составлял около 8 см («Сорбфил ПТСХ-ПА-А-УФ», «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ») или 13 см («Silufol UV 254») [22, 101, 237, 276, 302].

Обнаружение пятен проводили УФ-облучением (254 и 366 нм) до и после обработки хроматограмм 1% спиртовым раствором $AlCl_3$ (флавоноиды), обработкой 1% спиртовым раствором $FeCl_3$ и щелочным раствором (Na_2CO_3); свежеприготовленным раствором диазобензолсульфокислоты (фенольные

соединения); 20% раствором серной кислоты с последующим нагреванием при 100-120 ^{0}С (стерины и др. терпеноиды) [40, 55, 89, 155, 238, 239, 300].

2.2.3.2. Бумажная хроматография (БХ)

Бумажную хроматографию (БХ) сахаров и других компонентов осуществляли на бумаге FN-11, FN-15 в нисходящем токе растворителей. При этом использовали системы растворителей 1-3:

1 - этилацетат-*н*-пропанол-вода, 7:2:1;

2 - 15% уксусная кислота;

3 - *н*-бутанол-уксусная кислота-вода, 4:1:2.

Для обнаружения моносахаридов (после кислотного или ферментативного гидролиза) на хроматограмме использовали раствор анилинфталата в *н*-бутаноле, насыщенном водой, при последующем нагревании хроматограмм при 105 °С в течение 5-10 мин. Идентификацию углеводов проводили с помощью достоверно известных стандартных образцов глюкозы, галактозы, рамнозы, ксилозы, арабинозы, апиозы [30, 41, 50, 51, 62, 89, 99, 155, 238].

2.2.3.3. Колоночная хроматография (КХ)

Колоночная хроматография использована для выделения и очистки индивидуальных соединений из исследуемого ЛРС.

Препаративное разделение экстрактивных веществ осуществляли методом адсорбционной колоночной хроматографии с использованием следующих сорбентов [38, 50, 51, 89]:

1)Силикагель марки L 40/100 мкм (Чехия);

2)Полиамид «Woelm» (Германия).

3)Сефадекс LH-20 (Швеция).

Элюирование на хроматографической колонке (силикагель, полиамид, сефадекс LH-20) осуществляли хлороформом, а также хлороформом, содержащим в различных концентрациях спирт этиловый (1 %, 2 %, 3 %, 5 %, 7 %, 10 %, 12 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %). Рехроматографию полученных фракций веществ

осуществляли на полиамиде, используя элюирование смесями вода-спирт в различных соотношениях (100:0; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50; 30:70, 0:100). Кроме того, эффективного разделения и очистки веществ удалось добиться чередованием указанных сорбентов и соответствующих систем растворителей (хлороформ-спирт этиловый, спирт этиловый-вода в различных соотношениях) [41, 55, 62, 89, 155].

2.2.3.4. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

Методом ВЭЖХ были исследованы:

- ✓ Водно-спиртовые извлечения из коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, листьев и плодов сенны александрийской, корней марены красильной.
- ✓ Отвары коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, листьев и плодов сенны александрийской, корней марены красильной.
- ✓ Сиропы коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, листьев сенны александрийской.
- ✓ Густой экстракт плодов сенны александрийской.

Исследуемые препараты разводили в 20 % буфере Б (80 % ацетонитрил в 0,1 % водном растворе трифторуксусной кислоты) в соотношении 1:50 (20 мкл препарата в 1 мл 20 % буфера Б). После чего вносили в объеме 20 мкл на колонку ReproSil-Pur C18 300 ODS-3, 4.0 × 250 mm (“Dr. A. Marsch Ammerbuch-Entringen”, Germany) интегрированную в ВЭЖХ-систему “Knauer SmartLine” (Germany). Предварительно колонку уравновешивали 20 % буффером Б. Элюирование проводили в градиентном режиме: 20-90 % (v/v) за 25 мин со скоростью потока 0.5 мл/мин. Поглощение детектировали при 420 нм [34, 72, 155, 278].

Навеска РСО (100 мкг) растворялась в 100 мкл смеси ацетонитрил-вода и в объеме 20 мкл наносилась на колонку. Интенсивность пика, его площадь далее являлись основой для расчета количества вещества в исследуемых пробах, путем соотнесения площадей соответствующих пиков [55, 89, 263, 264, 287].

Качественный анализ проводили посредством регистрации времен удерживания веществ и сравнения спектральных отношений, причем как в

условиях метода внутреннего стандарта, так и путем введения растворов индивидуальных веществ в хроматографическоую колонку. Количественный анализ осуществляли с использованием выделенных индивидуальных веществ – рабочих стандартных образцов франгулина А, сеннозида В, руберитриновой кислоты [51, 107, 270, 312].

Срок годности лекарственных форм определяли в естественных условиях хранения, в прохладном, защищенном от света месте.

2.2.4. Спектральные методы

2.2.4.1. Метод УФ-спектроскопии

Спектрометрическое исследование проводили для качественной и количественной оценки содержания суммы антраценпроизводных в сырье исследуемых видов ЛРС, а также лекарственных препаратов. Для этих целей использовали метод прямой и дифференциальной спектрометрии на спектрофотометре - Specord 40 (Analytik Jena), СФ-2000, UNICO 2800 в кюветах с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служил 95 % спирт этиловый и вода.

Кроме того, спектроскопию (с использованием различных ионизирующих и комплексообразующих добавок) применяли для идентификации выделенных веществ в совокупности с данными результатов химических превращений, данных масс- и ЯМР- спектров, ИК-спектров [30, 38, 55, 99, 272, 284, 309, 330]. Кроме того, с использованием метода УФ-спектроскопии осуществляли сравнительное исследование зависимости спектральных характеристик индивидуальных антраценпроизводных от их химической структуры, а также растворов водно-спиртовых извлечений от их компонентного состава.

2.2.4.2. ^{1}H-ЯМР-и ^{13}C-ЯМР-спектроскопия

^{1}H-ЯМР-спектры и ^{13}C-ЯМР-спектры регистрировали на спектрометре «Varian-Gemini-200» (200 МГц) и приборе «Bruker»AM 300 (300 МГц). Измерение спектров осуществляли в дейтерированных растворителях – в зависимости от степени полярности вещества: $CDCl_3$, $(CD_3)_2CO$, D_2O, DMSO-d_6 [30, 38, 55, 99, 272, 284, 309, 330].

2.2.4.3. Масс-спектрометрия

Масс-спектры электронного удара регистрировали на приборе масс-спектрометр «Kratos MS-30» при энергии ионизирующих электронов 70 эВ и варьировании температуры ионного источника от 30 до 250 °С [30, 38, 55, 99, 272, 284, 309, 330].

Определение температуры плавления выделенных веществ осуществляли на блоке Кофлера.

2.2.5. Методы получения экстракционных лекарственных препаратов

Лекарственные препараты изготавливали в соответствии с общими правилами фармацевтической технологии: в лабораторных мацерационных баках и перколяторах [52, 56]. Для приготовления экстракционных препаратов использовали спирт этиловый в концентрации 40% и 70%. Полученные лекарственные формы контролировали на соответствие требованиям общей фармакопейной статьи «Экстракты» (ОФС.1.4.1.0021.15) и «Настойки» (ОФС.1.4.1.0019.15) [65]. Определение концентрации спирта проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ XIII издания (ОФС.1.2.1.0016.15) [56].

Сухой остаток определяли по фармакопейной методике ГФ РФ XIII издания (ОФС.1.5.3.0006.15) [56]. Определение экстрактивных веществ проводили в соответствии с ГФ СССР XI издания (вып. 1, стр. 295) [51]. Испытания на микробиологическую чистоту проводили в установленном порядке в соответствии

с ГФ СССР XI издания (вып. 2, стр. 193, Изменением № 3 к ГФ СССР XI издания) и Государственной Фармакопеей РФ XII издания [52].

2.2.5.1. Метод мацерации

В мацерационный бак помещали необходимое количество сырья и заливали 2-мя – 7-ми кратным по отношению к массе сырья объемом экстрагента. Выдерживали для набухания в течение 1 часа. Затем настаивали сырье с прописанными объемами экстрагента при комнатной температуре в течение 7 суток с периодическим перемешиванием мешалкой. После этого сырье отжимали и замеряли объем полученной вытяжки. Объемом экстрагента, равным недостатку, промывали сырье, повторно отжимали и обе порции извлечения объединяли [52].

2.2.5.2. Метод перколяции

Данный метод в классическом лабораторном исполнении для получения настоек (1:5) из ЛРС заключался в пропускании через сырье непрерывного потока всего рассчитанного количества экстрагента. Для этого в мацерационный бак помещали необходимое количество сырья и заливали 2-мя – 7-ми кратным по отношению к массе ЛРС объемом экстрагента. Оставляли для набухания на 1,5 часа. Набухший материал загружали в перколятор на ложное дно достаточно плотно, чтобы в сырье оставалось как можно меньше воздуха. Сверху сырье прижимали перфорированным диском. Непрерывным потоком экстрагента заливали сырье (при открытом кране для вытеснения воздуха). Как только экстрагент начинал вытекать в приемник, кран перколятора закрывали, экстрагент возвращали на сырье и добавляли его до «зеркала», толщина которого составляла 30-40 мм. Мацерационная пауза составляла 24 часа. Затем у перколятора открывали кран, а на сырье с постоянной скоростью непрерывно подавали экстрагент. Перколировали до получения заданного количества настойки [52].

2.2.5.3. Метод модифицированной мацерации

Сырье делили на 3 равные части. Первую часть настаивали 12 часов, вторую – 6 часов, третью – 30 мин на кипящей водяной бане. Далее сырье отжимали, извлечение отстаивали 2 суток на холоде (при температуре 8ºС) для осаждения балластных веществ, затем отфильтровывали [52].

2.2.6. Фармакологические методы

Фармакологические исследования проводились на базе кафедры фармакологии Оренбургского государственного медицинского университета. Данная работа была проведена под руководством доцента, к.м.н. А.Н. Санькова.

Доклинические испытания слабительного действия проводились на белых беспородных крысах-альбиносах обоих полов массой 250 г, накормленных последний раз за 6 часов до эксперимента (стандартный рацион вивария), которые были помещены отдельно в клетки. Опытные и контрольные группы были составлены из 10 животных каждая. Исследуемые препараты вводили животным в опытных группах внутрижелудочно в объемах, эквивалентных дозировкам 5 мг/кг, 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг в пересчете на антраценпроизводные. В случае большого объема вводимых препаратов (более 8 мл) отвар, в том числе для приготовления сиропов, упаривали. Параллельно проводился контроль (вода – для изучения слабительного действия водных извлечений антраценсодержащих растений).

Через 18 часов после введения изучаемых образцов подсчитывалось общее количества фекалий от каждого животного всех анализируемых групп. Процент увеличения кала и доли влажных фекалий от их общего количества считался слабительным эффектом.

2.2.6.1. Изучение слабительного действия

Скринингу подверглись следующие лекарственные препараты: отвары коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, листьев и плодов сенны

александрийской, корней марены красильной, сиропы коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, листьев сенны александрийской, густой экстракт плодов сенны александрийской, приготовленные на кафедре управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ОрГМУ. Животные помещались в обменные клетки на 1 сутки, собранные фекалии анализировалась и взвешивались. Проводилась статистическая обработка полученных результатов экспериментов по критерию Манна-Уитни.

ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОПЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ

К фармакопейным растениям, содержащим антраценпроизводные относятся такие растения как крушина ломкая (*Frangula alnus* Mill., сем. *Rhamnaceae*), жостер слабительный (*Rhamnus cathartica* L., сем. *Rhamnaceae*), сенна александрийская (*Senna alexandrina* Mill., сем. *Fabaceae*), марена красильная (*Rubia tinctorum* L., сем. *Rubiaceae*), ревень тангутский (*Rheum palmatum* L., сем. *Polygonaceae*), алоэ древовидное (*Aloe arborescens* Mill., сем. *Asphodelaceae*). В Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIII издания представлены фармакопейные статьи лишь на крушину ломкую, жостер слабительный и сенну александрийскую, что же касается остальных растений то приходится руководствоваться устаревшими фармакопейными статьями Государственной Фармакопеи XI издания [52, 57]. При этом остаются не решенными проблемы фармакогностического анализа. Так в Государственной Фармакопеи XI издания раздел микроскопия представлен не достаточно, не оформлен иллюстрациями и не отражены отличительные анатомо-гистологические признаки, характерные для каждого лекарственного растительного сырья [52]. В связи с этим углубленное анатомо-гистологическое исследование лекарственного растительного сырья остается актуальным в связи с подготовкой фармакопейных статей для Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIII издания. По результатам предыдущих исследований нами были оформлены фармакопейные статьи на кору крушины ломкой и плоды жостера слабительного, которые вошли в Государственную Фармакопею Российской Федерации XIII издания [57]. В которых четко

отражались особенности анатомии и гистологии, а так же уточнены органолептические показатели водных растворов.

3.1. Ботаническое описание сенны александрийской

Рисунок 3.1 - Сенна александрийская (*Senna alexandrina* Mill.)*:* общий вид

Сенна александрийская (*Senna alexandrina* Mill., сем. *Fabaceae)* [266] — ксерофитный кустарник до I м высотой (рис. 3.1). Стебель ветвистый, нижние ветви длинные, почти стелющиеся по земле. Листья очередные парноперистые с 4-8парами листочков: листочки ланцето-видные, цельнокрайние, голые, длиной 20-30мм, шириной 5-9 мм. Цветки зигоморфные, пятичленные, длиной 7-8мм собранные в соцветия (пазушные кисти) (рис. 1). Венчик состоит из коротко-ноготковых неравных желтых лепестков. Плод — плоский, кожистый зеленовато-корнчневый боб (рис. 3.7-3.9) [9, 98]. Растение цветет с конца июня до осени, семена созревают с сентября [5, 10, 29, 57, 154, 184, 214, 259].

3.1.1. Ботаническая характеристика видов рода Сенна

Листья видов сем. Бобовых сложные, с прилистниками, нередко рано опадающими. Крме того, растения сем. Бобовых имеют дважды парноперистосложные листья [29, 231, 232].

Форма и размеры чашечки околоцветника видов сем. Бобовых довольно значительно варьируют. Лепестки видов из подсемейства цезальпиниевых и мотыльковых чаще всего прикреплены к цветочной трубке, которая возникла из сросшихся тканей чашелистиков, лепестков и тычинок. Цезальпипиеные в

подавляющем большинстве замечательны более или менее зигоморфным венчиком [5, 154, 214, 231, 232].

Соцветия у видов сем. Бобовых пазушные. Части их цветков, как правило, ярко окрашены. Эффективность опыления, таким образом, обеспечивается массовостью опылителей, которые иногда привлекаются своеобразным резким запахом цветущих растений.

Гинецей бобовых большей частью состоит из от 2 до 16 свободных плодолистиков, обычно сидящих на особой подставке - гинофоре. Число семязачатков в завязи варьирует от 2 до 15-20, но представители некоторых родов имеют всего один семязачаток. У цезальпиниевых семязачатки в большинстве анатропные [5, 29, 154, 188, 214, 231, 232].

3.1.2. Анатомо-гистологическое исследование строения листьев сенны александрийской

Анатомический анализ срезов с поверхности листа сенны александрийской позволил выявить классическое анатомическое строение листьев (рис. 3.2, 3.3) [126].

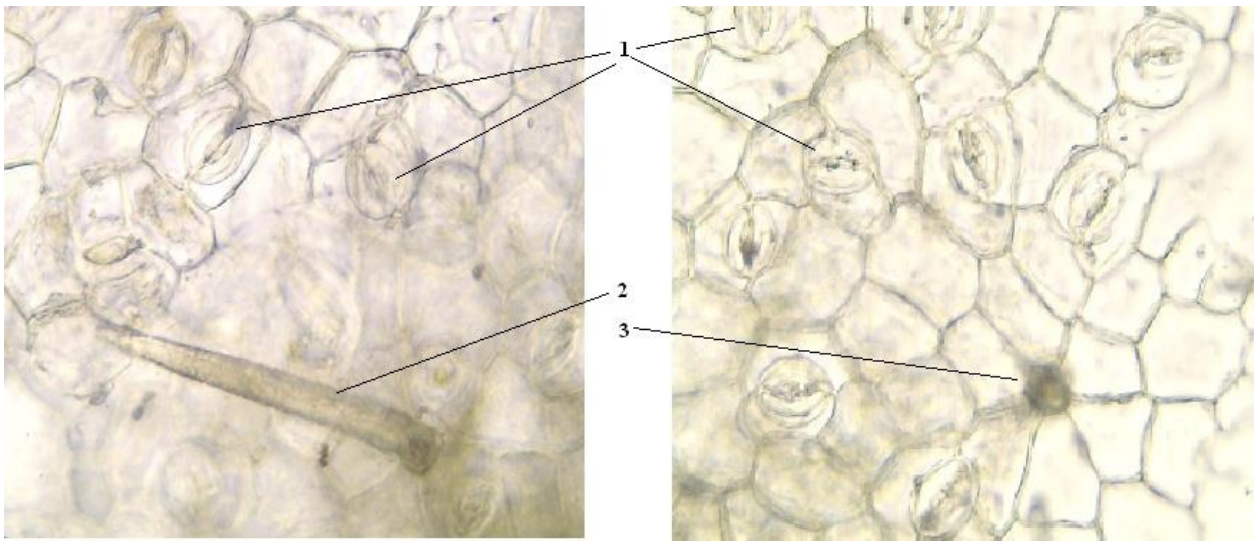


Рисунок 3.2 - Препарат листа сенны александрийский: верхний эпидермис (х 400)
Обозначения:
1 – устьица; 2 - простой волосок; 3 - место прикрепления волоска.

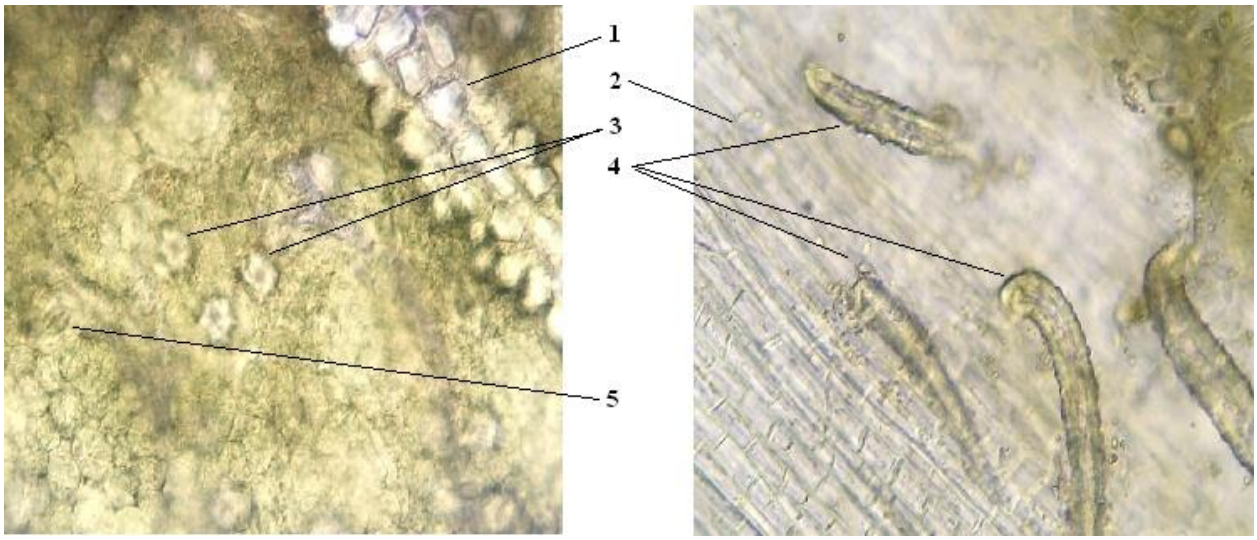


Рисунок 3.3 - Препарат листа сенны александрийский: нижний эпидермис (х 400)
Обозначения:
1 - жилка с кристаллоносной обкладкой; 2 - главная жилка; 3 - друзы оксалата кальция; 4 - простые волоски; 5 - устьица.

При рассмотрении листа с поверхности под микроскопом видны клетки эпидермиса с многоугольными прямыми стенками (рис. 3.2). Клетки, находящиеся у основания волоска, располагаясь радиально, образуют угловатую шести-десятилучевую розетку (рис. 3.2) [126]. Волоски короткие, простые, часто согнутые, одноклеточные, с толстыми стенками и грубобородавчатой поверхностью. Волоски часто опадают и в центре розетки виден округлый валик (рис. 3.2). Устьица окружены 2-3, реже 4 клетками эпидермиса (аномоцитный тип), расположены с обеих сторон листа (рис. 3.2) [126]. В мезофилле имеется много друз оксалата кальция. Главные и более крупные боковые жилки листа окружены кристаллоносной обкладкой (рис. 3.3). Описанные выше и подтвержденные диагностические признаки листьев сенны александрийской используют в настоящий момент в ФС «Сенны александрийской листья». Однако, на наш взгляд, совокупность имеющихся диагностических признаков не позволяет объективно определять подлинность листьев сенны. С целью совершенствования стандартизации лекарственного растительного сырья сенны александрийской нами предложены дополнительные диагностические признаки, относящиеся к особенностям анатомии и гистологии черешка листьев данного растения. Из-за особенностей морфологии листа, черешок остается на нем и в большинстве случаев

попадает в сырье, в виду чего он является постоянным компонентом сырья и может быть использован для диагностики сырья (рис. 3.4) [126].

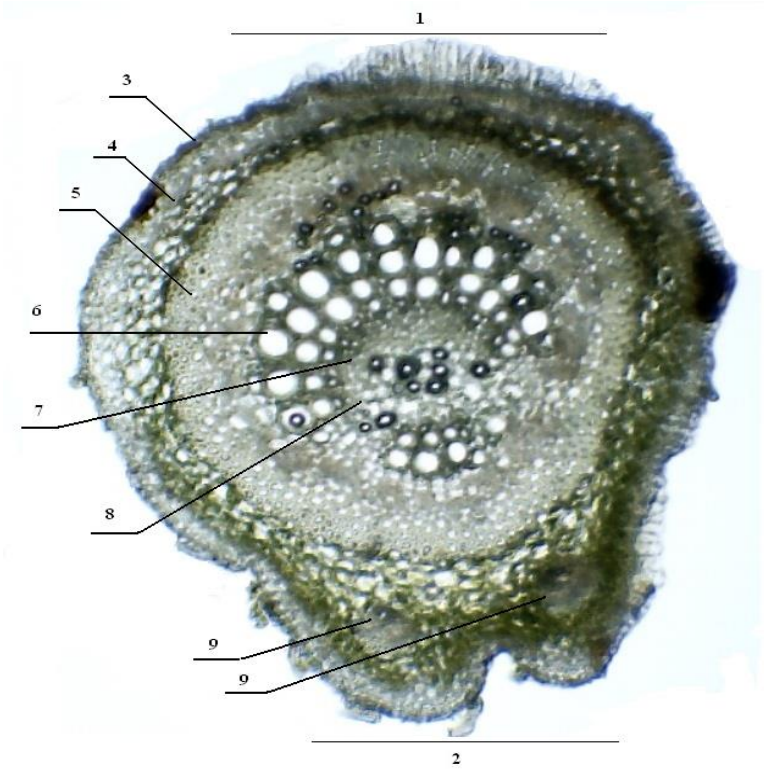


Рисунок 3.4 - Поперечный срез средней части черешка сенны александрийской (х100)

Обозначения:

1 - абаксильная сторона; 2 - адаксиальная сторона; 3 – эпидермис; 4 – колленхима; 5 – склеренхима; 6 - флоэма, 7 – ксилема; 8 - медиальный проводящий пучок; 9 - латеральный проводящий пучок.

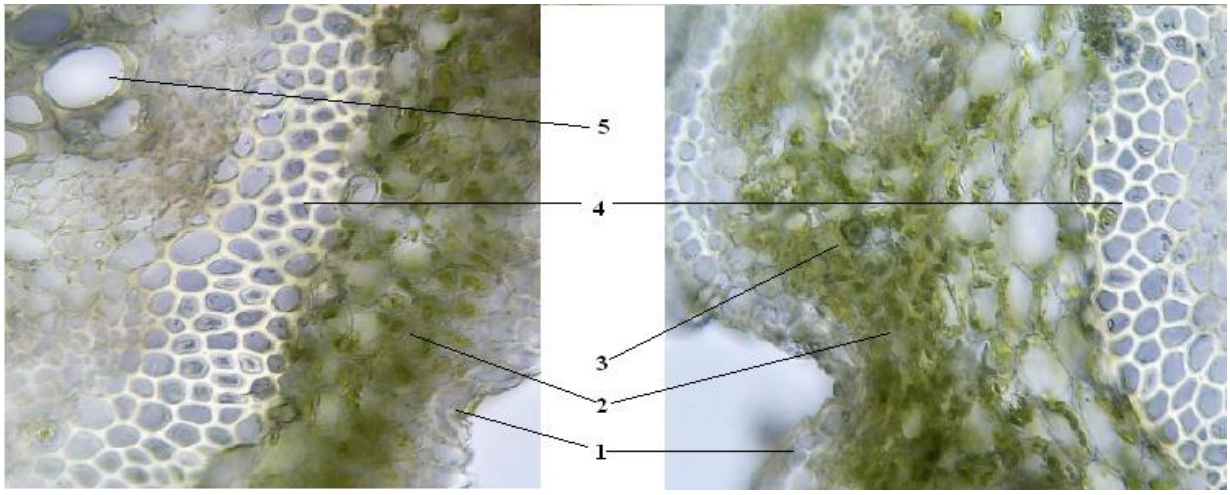


Рисунок 3.5 - Поперечный срез средней части черешка сенны александрийской (х400)

Обозначения:

1 - эпидермис; 2 - колленхима; 3 - друза оксалата кальция; 4 - склеренхима; 5 - флоэма.

При первичном рассмотрении общей картины поперечный срез черешка листа сенны александрийской не опушен и имеет желобчатую форму (рис. 3.4, 3.5) [126]. По краям желобка находятся адаксиальные выступы, черешки на поперечном срезе в адаксиальной части выемчатые. Непосредственно под эпидермой у черешка листа сенны александрийской располагается слой колленхимы округлого типа, представленный клетками в 3-4 слоя непрерывный по всей окружности. В колленхиме обнаружены друзы оксалата кальция (рис. 3.4, 3.5) [126]. Склеренхимная обкладка над флоэмой состоит из 4-6 рядов клеток с заметно утолщенными стенками. Черешки листьев сенны александрийской имеют пучковый тип строения. Проводящая ткань представлена тремя закрытыми коллатеральными пучками: крупным медиальным и двумя мелкими латеральными. Проводящие элементы ксилема и флоэма расположены в центре срезов по окружности, при этом флоэмная часть более выражена (рис. 3.4, 3.5) [126].

3.1.3. Анатомо-гистологическое исследование строения плодов сенны александрийской

Размеры бобов от 35 мм до 60 мм в длину и от 14 мм до 18 мм в ширину. Верхушка плода округлая**,** тупая**,** несимметричная. Карпофор - нижняя суженная часть плода - возникающая из короткой ножки **з**авязи. Перикарпий зреющих плодов жесткий, тонкий, сухой, с поверхности гладкий. В зрелых плодах перикарпий по консистенции деревянистый, ломкий (рис. 3.6 А) [118].

В плодах, как правило, содержится 6-8 семян, имеющих уплощенную и обратно-яйцевидную форму, цвет семян светло-коричневый (рис. 3.6 Б) [118].

А Б

Рисунок 3.6 - Плод сенны александрийской
Обозначения: А – боб, общий вид; Б – семя боба (х20).

Семена имеют заметную семяножку. Длина её варьирует по длине от 0,5 до 5 мм. Присемянник (ариллус) представляет собой сухой остаток фуникулуса, располагающийся возле рубчика в виде «капли» (место прикрепления семян к семяножке) (рис. 3.6 Б) [118].

3.1.3.1. Анатомо-гистологическое исследование створок боба сенны александрийской

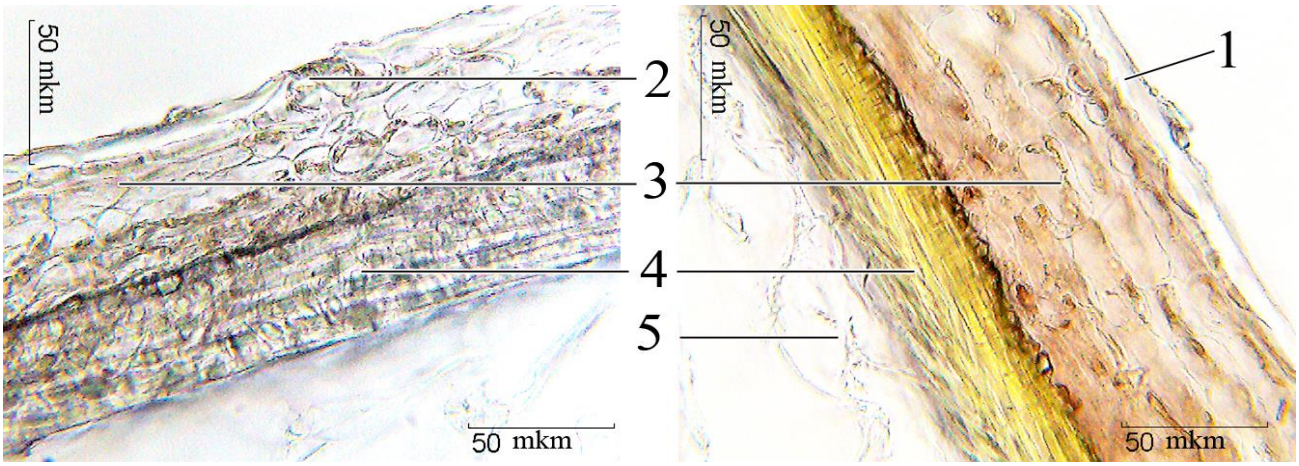
Анатомическая структура створок боба (перикарпия) условно делится на три блока: экзокарпий, мезокарпий, эндокарпий [118]. Фактически створка боба, анализируемого образца имеет классическое строение, а именно, на ее поперечных срезах выражены все три выше названных слоя перикарпа (рис. 3.7-3.9). Для детального изучения гистологических особенностей слоев перикарпа проанализированы поперечные срезы створок в базальной, медиальной и апикальной частях [118].

Экзокарпий боба представлен слоем наружной эпидермы (рис. 3.7). Клетки экзокарпа на поперечном сечении имеют уплощенную овальную форму. Наружная стенка клеток экзокарпа сильно утолщена. На поверхности экзокарпия легко диагностируются устьичные аппараты, достаточно часто встречающиеся, они окружены околоустьичными клетками, не отличающимися по форме от клеток основной эпидермы. Количество околоустьичных клеток равно трем-пяти

(аномоцитный тип) (рис. 3.7). Эпидермис плода опушен, но незначительно. Частота встречаемости трихом усиливается к его базальной части. Трихомы имеют классическое строение, характерное для видов сем. Бобовых [118]. Это простые многоклеточные волоски (обычно из 2-3 клеток), которые прикрепляются базальной частью к крупной, слегка приподнятой над поверхностью клетке эпидермиса (рис. 3.8) [118].

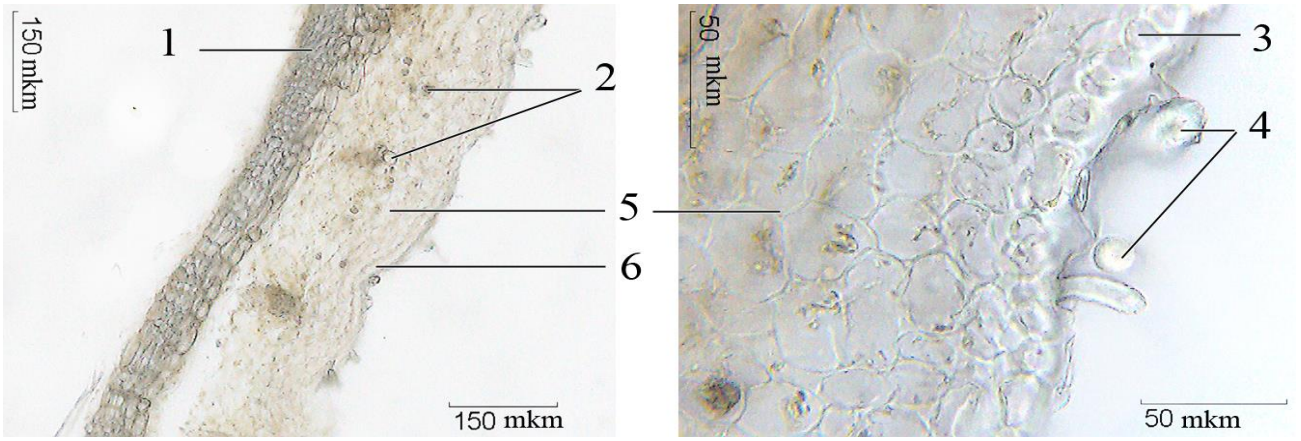
Мезокарпий - срединный блок створки, представлен многочисленными тонкостенными клетками округло-овальной формы с большим количеством межклетников. Клетки мезокарпия живые, содержат протопласт (в незрелых плодах - хлоропласт), который окрашивается при обработке раствором сернокислого анилина в бурый цвет (рис. 3.7). Проводящая система мезокарпия представлена пучками, расположенными как вдоль плода, так и поперечно его длине. Они коллатерального типа, в них наиболее развита флоэмная часть (рис. 3.9) [118].

Эндокарпий изучаемых плодов сложно организован и представлен в основном механическими элементами ксилемы. В центре локализовано основная паренхима клетки которой часто склерефицированы (рис. 3.8, 3.9) [118].



А Б

Рисунок 3.7 - Створка боба. Поперечный срез медиальной части (х400)
А – фрагмент с устьицем; Б – фрагмент, окраска сернокислым анилином.
Обозначения: 1 – кутикула; 2 – устьице; 3 – мезокарпий; 4 – экзокарпий; 5 – паренхима плаценты.



А Б

Рисунок 3.8 - Створка боба. Поперечный срез базальной части
А – общий вид (х100); Б – фрагмент экзокарпия (х400).
Обозначения: 1 – эндокарпий; 2 – проводящие элементы; 3 – паренхима мезокарпа; 4 – экзокарпий; 5 – друза; 6 - трихомы.

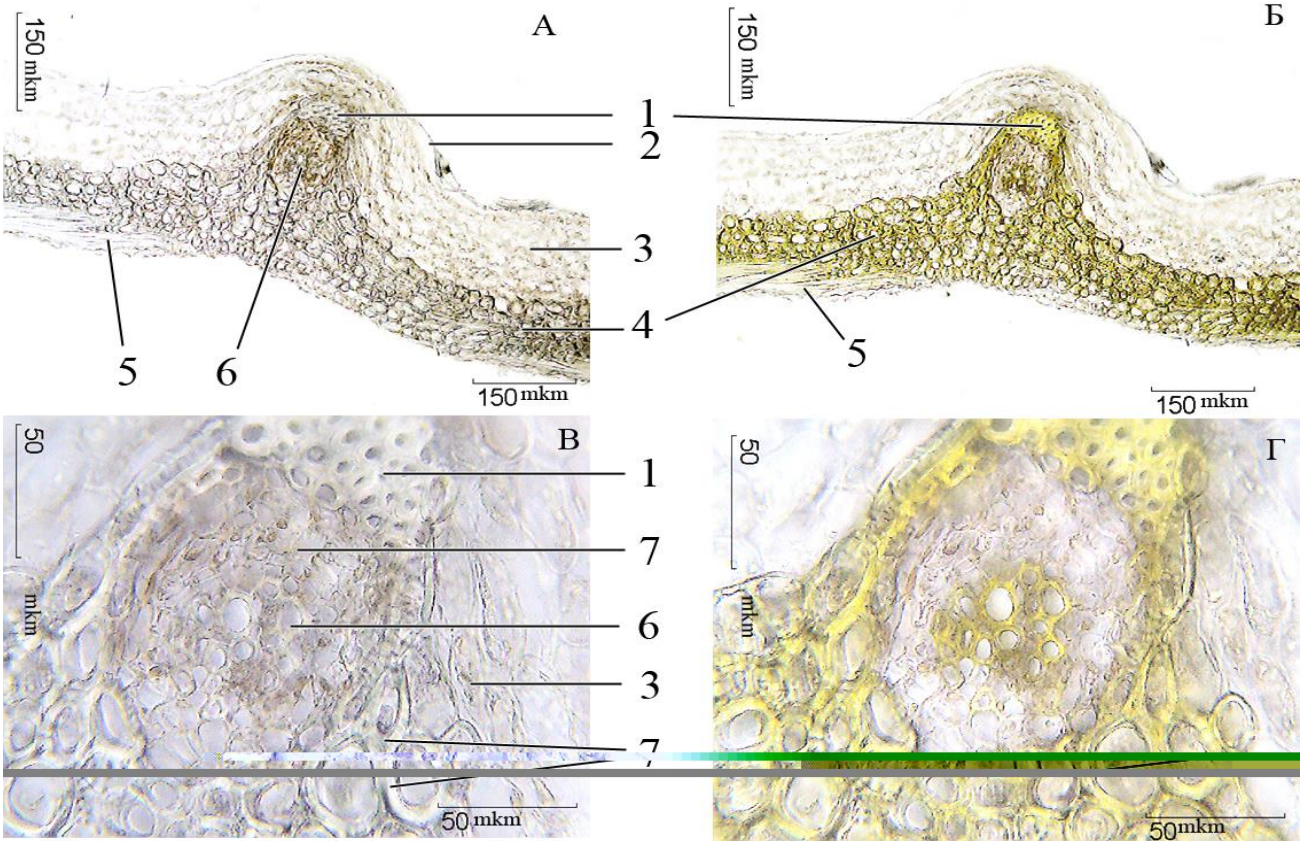
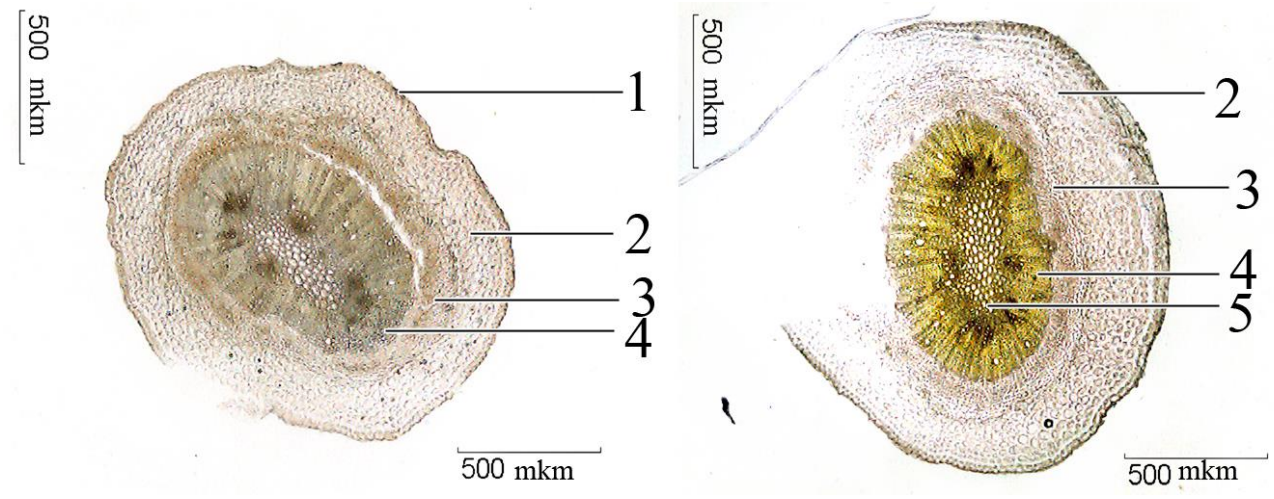


Рисунок 3.9 - Проводящий пучок на продольном сечении створки боба в средней части.
А - общий вид; Б - окраска сернокислым анилином (х100); В - проводящий пучок (х400); Г - краска сернокислым анилином (х400)
Обозначения: 1 – лубяные волокна; 2 – экзокарпий; 3 – паренхима мезо; 4 – склереиды эндокарпия; 5 – волокна склеренхимы эндо; 6 – элемент ксилемы; 7 – флоэма.

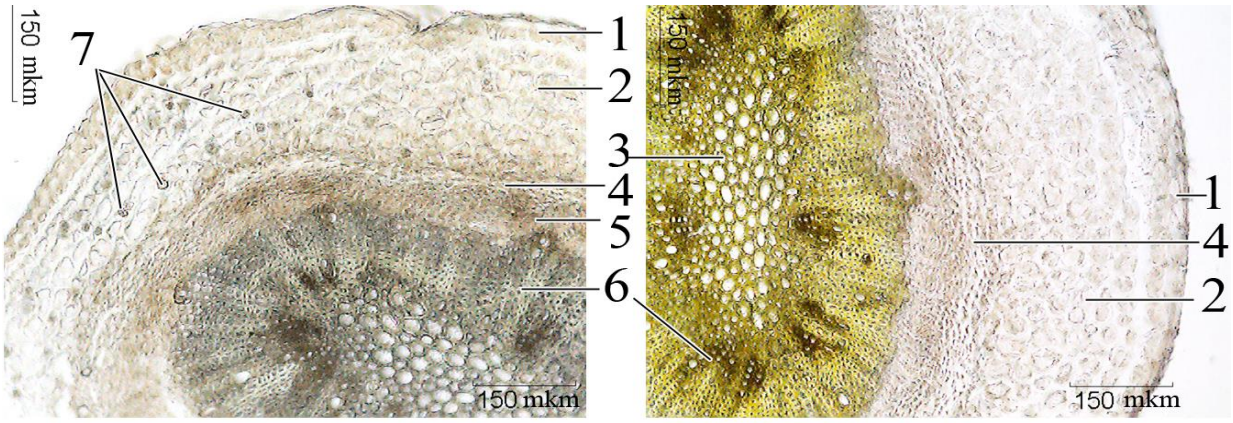
3.1.3.2. Анатомо-гистологическое исследование плодоножек боба

На поперечном сечении плодоножки овальной формы. Сердцевина выражена слабо и представлена клетками овальной формы со значительно утолщенными склерифицированными оболочками. Центральный цилиндр представлен кольцом ксилемы, окруженным слоем флоэмы, менее выраженным в толщину. Кнаружи от флоэмы располагается слой первичной коры выполненной основной паренхимой с крупными живыми клетками с заметно утолщенной целлюлозной оболочкой (рис. 3.10, 3.11) [118]. В паренхиме первичной коры ближе к эпидерме могут встречаться склеренхимные волокна перициклического происхождения. Выше первичной коры расположен слой уголково-пластинчатой колленхимы в толщину достигающий 4-5 клеток. Размер клеток колленхимы варьирует и увеличивается от периферии к центру. Снаружи плодоножка покрыта эпидермой, лишенной опушения. Клетки её на поперечном сечении имеют форму полукруга из-за сильно утолщенной наружной клеточной стенки, это придаёт поверхности волнистую форму, окрашивающейся раствором сернокислого анилина в слабо-желтый цвет (рис. 3.10, 3.11) [118].



А Б

Рисунок 3.10 - Плодоножка боба. Поперечный срез (х40)
А – до окрашивания; Б – окраска сернокислым анилином.
Обозначения: 1 – эпидермис; 2 – паренхима коры первичной; 3 – флоэма; 4 – ксилема; 5 - сердцевина.



А Б

Рисунок 3.11 - Коровая часть плодоножки боба. Поперечный срез (х100)
А – фрагмент до окраски; Б - окраска сернокислым анилином.
Обозначения: 1 – эпидермис; 2 – паренхима коры; 3 – склеренхима; 4 – флоэма; 5 – ксилема; 6 – сердцевина; 7 - друзы.

3.1.3.3. Анатомо-гистологическое исследование семени боба сенны александрийской

Семяна боба симметричные. Их форма угловатая, яйцевидная, почти 3-угольная, поверхность складчатая. Кожура семени (спермодерма) сенны александрийской блестящая, по консистенции плотная, водонепроницаемая. Окраска семян варьирует от золотисто-желтой до светло-зеленой с темно-бурым пятном (рубчик) на одном боку в халазной части семени (рис. 3.12) [118].

Халаза - базальная часть семязачатка, морфологически расположенная в верхней части семени. При этом в ней соединяется нуцеллюс и интегументы, в этой же области заканчивается сосудистый пучок, идущий из фуникулуса [118].

Изучение халазной части семени сенны александрийской позволило выявить особенности расположения микропиллярного следа, рубчика а также рубчикового валика. Кроме того, выявлена пигментация рубчика (рис. 3.12). У семян сенны александрийской имеется также шов, так называемое рафэ, образованное присоединенными тканями сосудистого пучка и его окружающих клеток к тканям семени. Рафэ расположено между рубчиком и халазой (рис. 3.12) [118].

Плеврограмма - углубление в палисадном слое спермодермы на латеральных (боковых) сторонах семени в виде бороздки является особенностью семян бобовых. Клетки спермодермы покрывают все семя, кроме области вокруг рубчика и имеет

пленчатый характер, поверхность которой легко разрывается и лопается. Палисадный слой в поперечном сечении представлен продолговатыми, толстостенными клетками так же называемыми мальпигиевыми [118]. Полость мальпигиевых клеток относительно узкая и расширяется книзу (рис. 3.13-3.15).

Под спермодермой располагается гиподермальный слой, который образован склереидами с заметно утолщенными стенками. Клетки данного слоя живые, широкопросветные (рис. 3.13-3.15). Особенностью является характер утолщений клеточных стенок на срединной части, что придает им определенную форму на поперечном сечении. Непосредственно под гиподермой находится слой паренхимной ткани. Толщина слоя и характер клеток его слагающих варьируют в зависимости от места среза семени. Внутренние участки паренхимного слоя часто облитерированы [118].

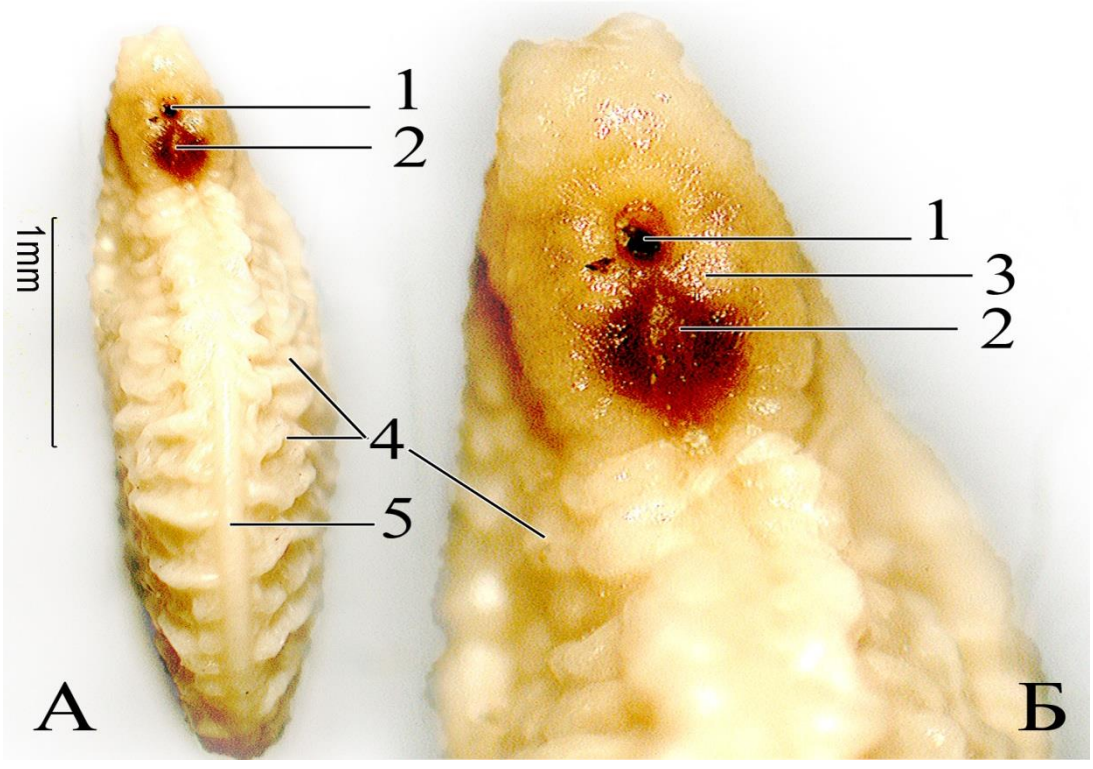


Рисунок 3.12 - Особенности строения зоны рубчика семени кассии длиннолистной
А – семя, вид сбоку (х20); Б – фрагмент зоны рубчика (х40)
Обозначения: 1 - микропиллярный след; 2- рубчик; 3- рубчиковый валик; 4 - складчатая спермодерма; 5 - рафэ.

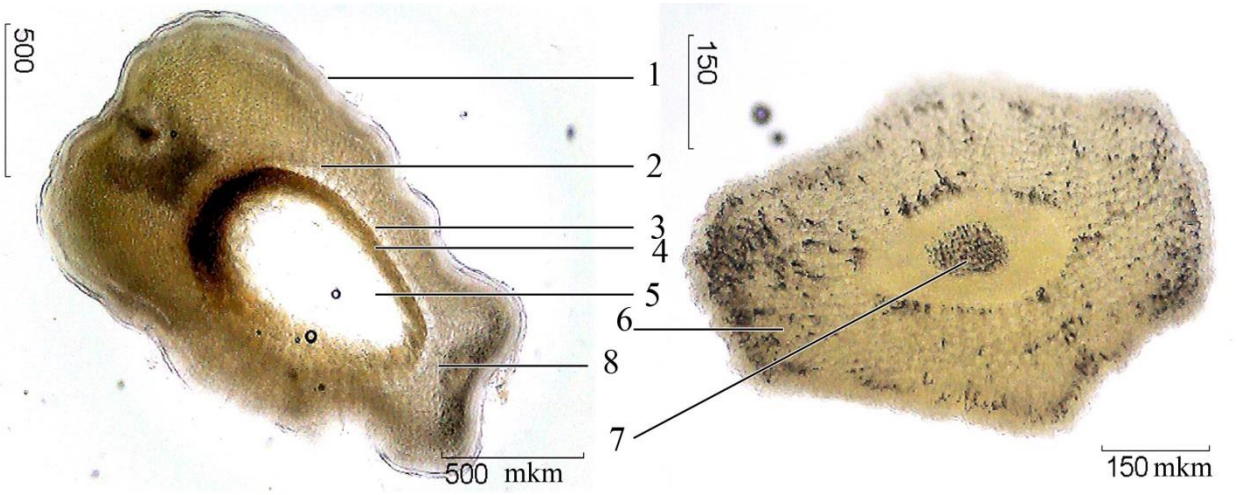


Рисунок 3.13 - Халазная часть семени. Поперечный срез
А – фрагмент с микропиллярным следом (х40); Б – фрагмент с корешком (х100)
*Обозначения:*1 – спермодерма; 2,6 – паренхима; 3 - слой крупнопросветных клеток; 4 – эндосперм; 5 – полость; 7 – корешок; 8 – склеренхима; 9 - антирафэ.

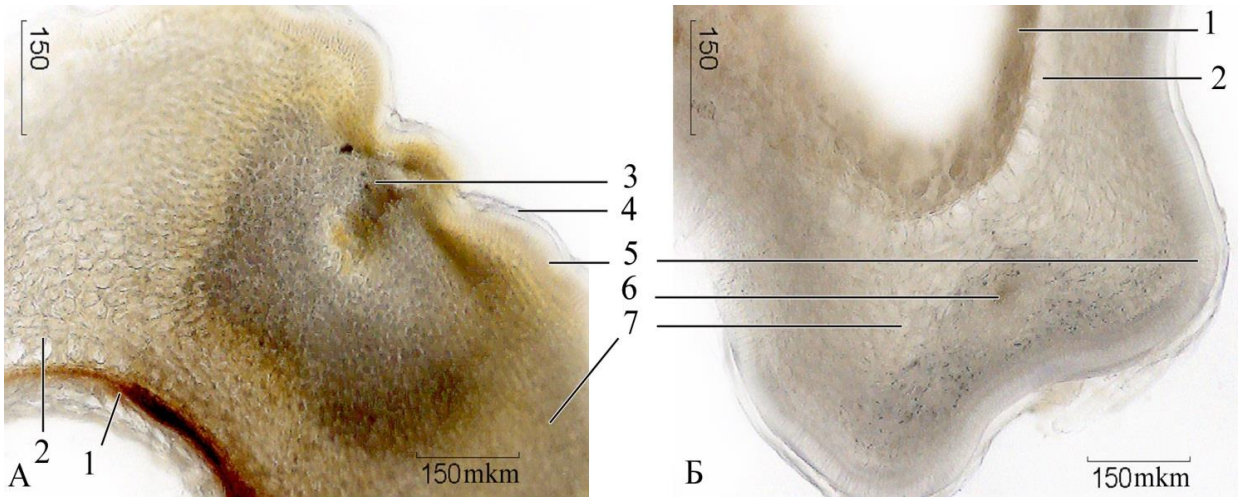


Рисунок 3.14 - Проводящие пучки семени. Поперечный срез (х 100)
А – фрагмент семени с рафэ; Б – фрагмент семени с антирафэ
Обозначения: 1 – эндосперм; 2 – ряд крупнопросветных клеток; 3 – пучок рафэ; 4 – кутикула; 5 – палисадные клетки; 6 – пучок антирафэ; 7 – паренхима; 8 - этиолированные клетки паренхимы.

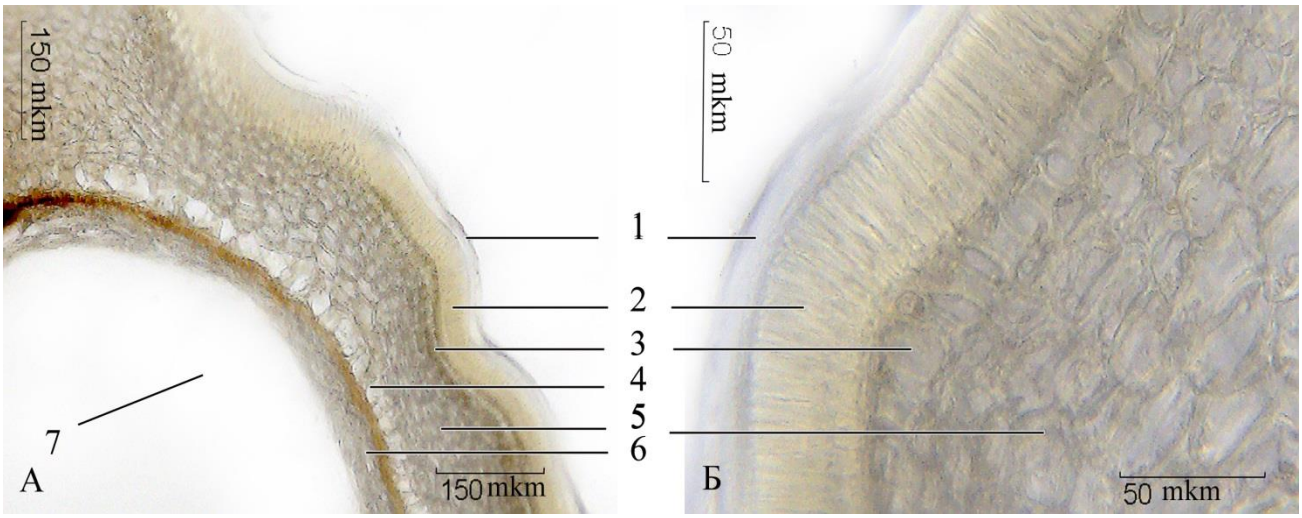


Рисунок 3.15 - Семенная оболочка. Поперечный срез. Обработка 5% раствором щелочи
А – фрагмент оболочки (х100); Б – фрагмент спермодермы (х400)
Обозначения: 1 – кутикула; 2 – палисадные клетки; 3 – гиподерма; 4 – слой крупнопросветных клеток; 5 – паренхима; 6 – эндосперм; 7 – полость семени.

3.2. Марена красильная (*Rubia tinctorum* L.)

3.2.1. Ботаническое описание марены красильной и марены грузинской

Рисунок 3.16 - Марена красильная (*Rubia tinctorum* L.): общий вид

Марена красильная (*Rubia tinctorum* L., сем. *Rubiaceae)* [266] — многолетнее травянистое цепляющееся растение с длинным горизонтальным корневищем (рис. 3.16). Главный корень довольно мощный, который на некоторой глубине разветвляется на корни второго порядка. От верхней части его отходит несколько ползучих деревянистых корневищ (рис. 3.16). Почки возобновления расположены преимущественно в верхней части корневищ. Стебли слабые, тонкие,

длиной до 150 см, четырехгранные,
колюче-шероховатые по ребрам

из-за цепких, назад загнутых шипов, прилегающие или цепляющиеся, благодаря обильным зубчикам (рис. 3.16) [13, 61, 154, 215, 231, 232]. Листья по 4-6 в мутовке, длиной около 10 см, ланцетовидные или эллиптические, почти без черешков, по краю и снизу по жилкам шиповатые. Цветки мелкие, зеленовато-желтые, в пазушных ветвистых полузонтиках, образующие многоцветковые метельчатые соцветия (тирсы) (рис. 3.16). Плоды сочные, ягодообразные, сначала красного, затем черного цвета, односеменные, реже двухсеменные (сок дает трудносмываемые темно-вишнево-красные пятна). Растение цветет в июле-августе. Поздно осенью (в октябре-ноябре) мякоть плодов засыхает [11, 154, 213, 215, 231, 232].

Марена грузинская отличается от марены красильной незначительно. На молодых побегах листья сидячие, на старых – с черешками. С нижней стороны листья имеют серое опушение, по жилкам и краю – крючковидные зубчики [154, 215, 231, 232].

3.2.2. Ботаническая характеристика видов рода Марена

Листья у мареновых мутовчатые, простые. Они варьируют от крошечных чашиевидных или игловидных до крупных.
Цветки мареновых правильные, обоеполые, 5-4-членные, обычно собранные в разнообразные цитомоидные соцветия типа тирса. Околоцветник двойной. Чашечка развита слабо, нередко малозаметная, 3(4) - 5(8)-зубчатая или лопастная). Венчик сростнолепестковый, 5-4(редко 8-10)-лопастной, колесовидный, воронковидный или трубковидный [5, 11, 29, 61, 214].

Тычинки, как правило, в одинаковом числе с лопастями венчика, чередуются с ними и прикреплены нитями к его трубке или зеву. Пыльники двухгнездные, иногда разделены поперечными перегородками, вскрываются продольно, интрозные или экстрозные. В основании столбика имеется нектарный диск.

Гинеций цепокарпный, сросшийся обычно из двух, редко большего числа плодолистиков, с тонким нитевидным столбиком. Рыльце лопастное или головчатое. У вида сем. Мареновых известна гетеростилия.

Завязь обычно нижняя, двугнездная, с одним или чаще всего со многими семязачатками в каждом гнезде. Семязачатки висячие или горозонтальные.

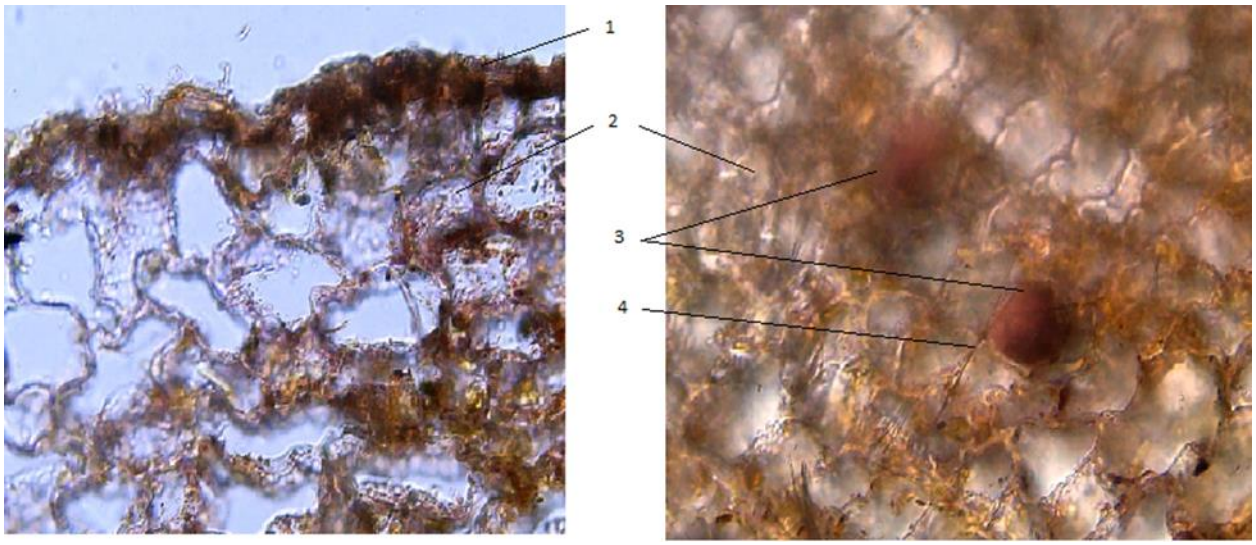
Мареновые - энтомофитные растения. Для привлечения насекомых служит яркая, заметная окраска цветков, обильно выделяющийся нектар и нежный аромат цветков. Наиболее обычные опылители цветков мареновых - дневные и ночные бабочки, пчелы и шмели. Плод видов сем. Мареновых диаметром от 2 мм до 20см. Ценокарпий: коробочка, ягода, ценокарпная костянка. Очень часты схизокарпии, то есть сухие ценокарпии, распадающиеся продольно.

Семена различны по величине и форме, часто мелкие, обычно с прямым зародышем и с эндоспермом, реже эндосперм почти или полностью отсутствует. Они прямые, висячие или горизонтальные, иногда крылатые или с ариллусом, у некоторых мареновых погружены в студенистую плацентарную массу.

Ягоды, костянки и сочные соплодия многих мареновых охотно поедают различные виды птиц, летучие мыши и другие животные, распространяющие семена [5, 11, 29, 61, 154, 214, 232, 233].

3.2.3. Анатомо-гистологическое исследование корня марены красильной

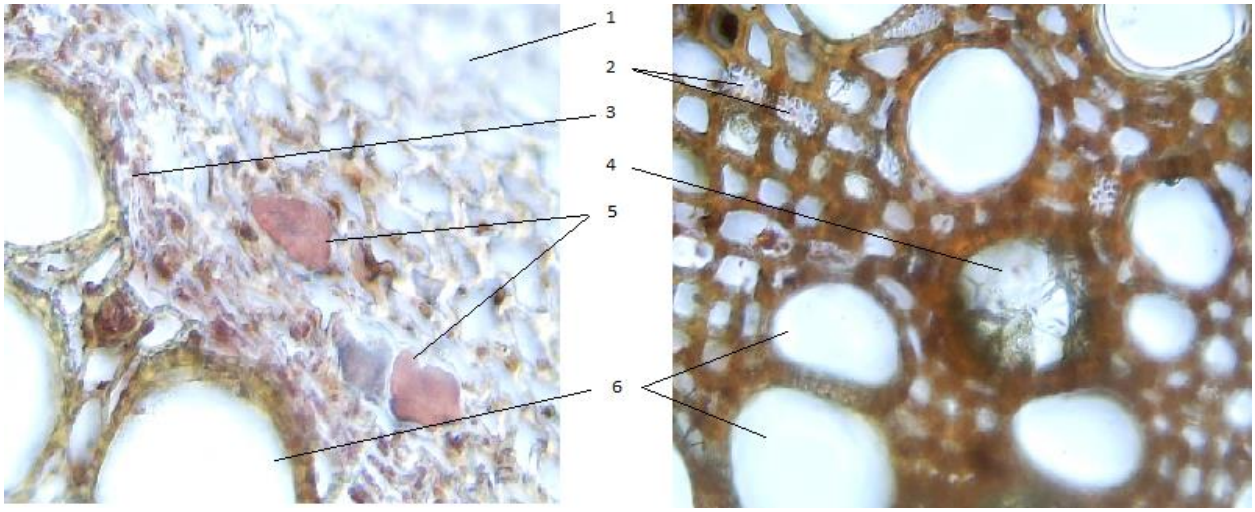
При исследовании анатомических признаков установлено (рис. 17-20), что корни на поперечном срезе имеют округлую форму [125]. Корень имеет ярко выраженное нелучистое (вторичное) строение. Корни слагаются из тканей центрального цилиндра и первичной коры, с поверхности находится перидерма (пробка). Пробковый слой состоит из одного ряда клеток с тонкими оболочками (рис. 3.17, 3.20).



А Б

Рисунок 3.17 - Поперечный срез корней марены красильной (х400)
Обозначения: 1 – пробка; 2 – корковая паренхима; 3 – рафиды оксалата кальция; 4 – игольчатые кристаллы оксалата кальция.

Глубже, вслед за пробкой, располагается основная паренхима коровой части корня, оболочки клеток которые окрашены в красный или желтый цвет, что обусловлено наличием антраценпроизводных. Коровая паренхима представлена крупными извилистыми клетками, где содержатся рафиды оксалата кальция, расположенные по отдельности (рис. 3.17, 3.20). Для корня вторичного строения характерно наличие ярко выраженного камбиального кольца, ярко выделяющегося на поперечном срезе. Камбий тонкий, однорядный (рис. 3.18А, 3.20) [125].



А Б

Рисунок 3.18 - Поперечный срез корней марены красильной (х400)
А – фрагмент с камбием; Б – фрагмент с сосудами
Обозначения: 1 – корковая паренхима; 2 – лубяные волокна; 3 – камбий; 4 – тиллы; 5 – рафиды оксалата кальция; 6 – сосуды.

Сосуды древесины расположены группами, клетки древесной паренхимы – радиальными рядами. Все элементы древесины сильно одревесневшие. Между сосудами расположены группы желтоватых одревесневших лубяных волокон с толстыми стенками, окруженные кристаллоносной обкладкой. В полости сосудов встречаются тиллы (рис. 3.18А, 3.18Б, 3.20). В проводящей системе обнаружено большое количество рафид оксалата кальция (рис. 3.19) [125].

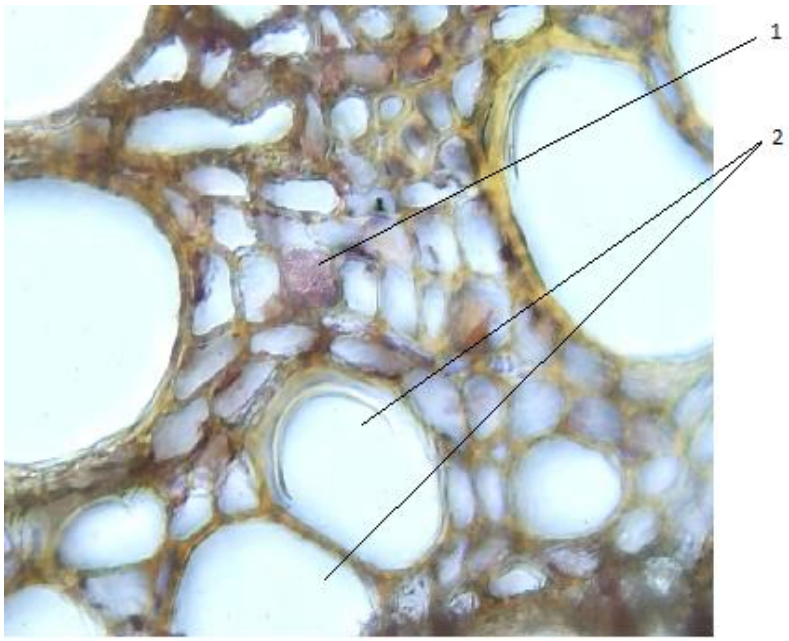
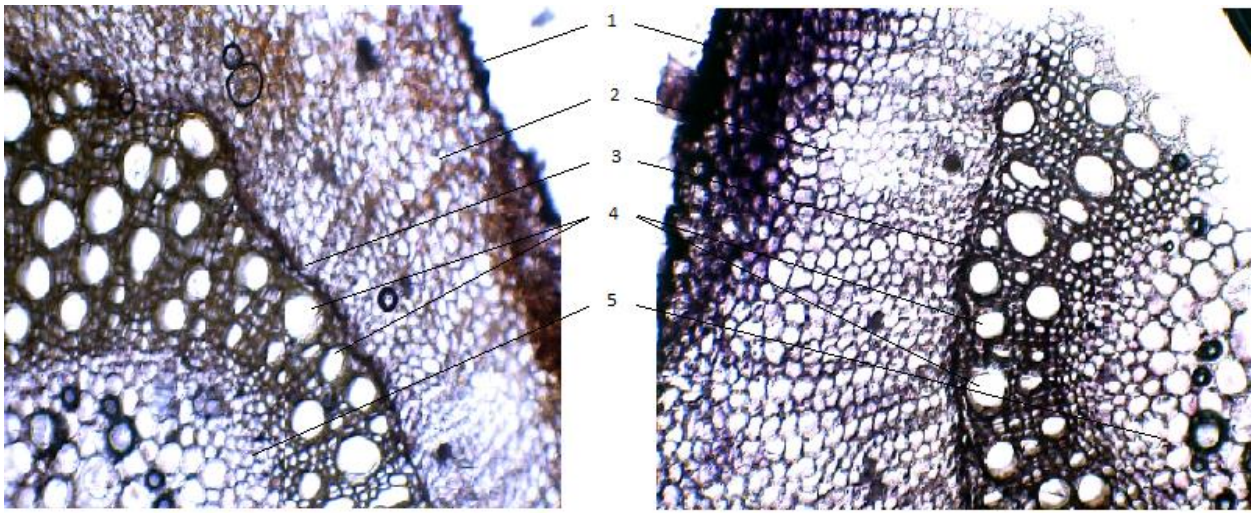


Рисунок 3.19 - Поперечный срез корней марены красильной (х400)
Обозначения: 1 – рафиды оксалата кальция; 2 – сосуды.



А Б

Рисунок 3.20 - Поперечный срез корней марены красильной (х100)
А – фрагмент с поперечного среза; Б – фрагмент, окраска раствором натрия гидроксида.
Обозначения: 1 – пробка; 2 – корковая паренхима; 3 – камбий; 4 – сосуды; 5 – сердцевина.

В качестве основной гистохимической реакции на антраценпроизводные использована окраска 33 % раствором натрия гидроксида. Следует заметить, что все структуры корней окрашивается в темный красно-фиолетовый цвет под воздействием реактива (рис. 3.20). Это дает основание предположить, что во всех тканях накапливаются антраценпроизводные [125].

3.3. Ревень тангутский (*Rheum palmatum* L.)

3.3.1. Ботаническое описание ревня тангутского

Рисунок 3.21 – Ревень тангутский (*Rheum palmatum* L.): общий вид

Ревень тангутский (*Rheum palmatum* L., сем. *Polygonaceae)* [266] — мощное многолетнее травянистое растение высотой до 250 см с многоглавым корневищем и отходящими от него крупными, мясистыми, на разрезе желтыми корнями (рис. 3.21). Стебли полые, толстые (до 4-5 см в диаметре), слабо облиственные, голые, покрытые красноватыми пятнышками (рис. 3.21). Прикорневые розеточные листья крупные (пластинка листа до 75 см в поперечнике), вместе с черешком длинной до 150 см. Пластинка листа в очертании широкояйцевидная, 5-7 лопастная; лопасти листьев заостренные, неравномерно крупно надрезанные, снизу листья густо опушенные (рис. 3.21). Стеблевые листья более мелкие, с бурыми раструбами у основания. Цветки беловато-розовые или красные, мелкие, собраны в многоцветковые метельчатые соцветия. Околоцветник простой, венчиковидный (рис. 3.21). Массовое цветение наступает на 3-й в июне.

Плод – трехгранный коричневато-красный ширококрылый орех длиной 6-9 мм. Растение плодоносит в июле [7, 12, 25, 95, 154, 214, 230, 231, 232].

3.3.2. Ботаническая характеристика видов рода Ревень

Многолетние травы. Листья разделены на доли. Характерная черта семейства – наличие сросшихся прилистников – раструбов. Мелкие цветки видов сем. Гречишных в верхушечных соцветиях однополые, имеют трехчленный план строения. Простой околоцветник состоит из 3-6 зеленых долей остающихся и видоизменяющихся при плодах. Тычинки в числе 6-9 расположены в два круга, причем во внутреннем круге они часто исчезают, а в наружном их число удваивается. Оболочка пыльцевых зерен трехбороздно-поровая. Гинецей обычно из 3, реже из 2-4 плодолистиков со свободными или более или менее сросшимися столбиками. Завязь верхняя, одногнездная, с одним ортотропным базальным семязачатком, сидящим на более или менее ясно выраженной ножке, соответствующей редуцированной центральной колонке. Такой тип строения завязи является отличительной чертой семейства. Плод ореховидный с числом граней, соответствующим числу плодолистиков. Относится к подсемейству щавелевые, которые характеризуются циклическим цветком и неруминированным эндоспермом [12, 95, 117, 154, 185, 230, 231, 232].

3.3.3. Анатомо-гистологическое исследование корня ревеня тангутского

При исследовании анатомических признаков установлено, что корни на поперечном срезе имеет округлую форму. Корень имеет ярко выраженное лучистое (вторичное) строение. Корни слагаются из тканей центрального цилиндра и первичной коры, с поверхности находится перидерма (пробка). Пробковый слой состоит не только из старых слущивающихся слоев, но также имеет новые слои, состоящие из ровных 3-5 рядов клеток правильной прямоугольной формы (рис. 3.22) [75, 83, 128].

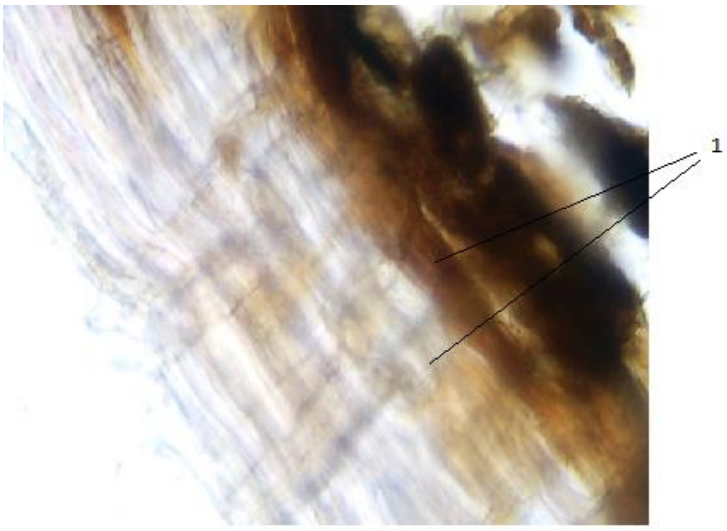


Рисунок 3.22 - Поперечный срез корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) (× 400)
Обозначения: 1- слой пробки.

В качестве основной гистохимической реакции на антраценпроизводные использована окраска 33 % раствором натрия гидроксида. Следует заметить, что пробка не окрашивается в красный цвет под воздействием реактива. Это дает основание предположить, что в покровных тканях не накапливаются антраценпроизводные. Глубже, вслед за пробкой, располагается основная паренхима коровой части корня, отдельные клетки которой окрашены в красный цвет, что обусловлено наличием антраценпроизводных (рис. 3.23). Коровая паренхима представлена крупными овальными клетками, где содержатся очень крупные друзы оксалата кальция (до 100-120 мкм), расположенные как по отдельности, так и группами. Коровая паренхима переходи в слой феллодермы. Феллодерма представлена слоем из 5-6 рядов клеток правильной прямоугольной формы, с утолщенными стенками (рис. 3.23) [128].

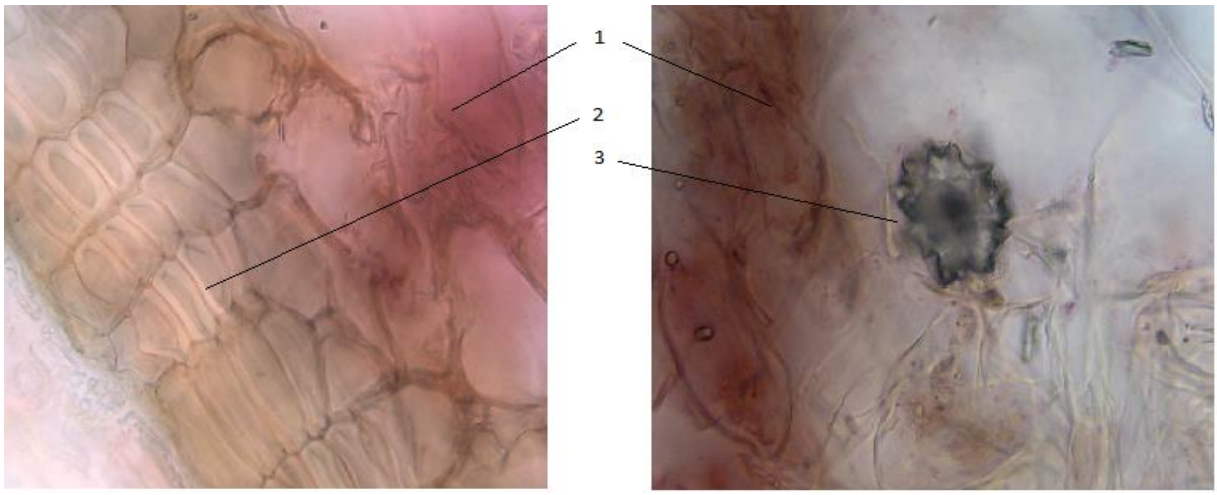
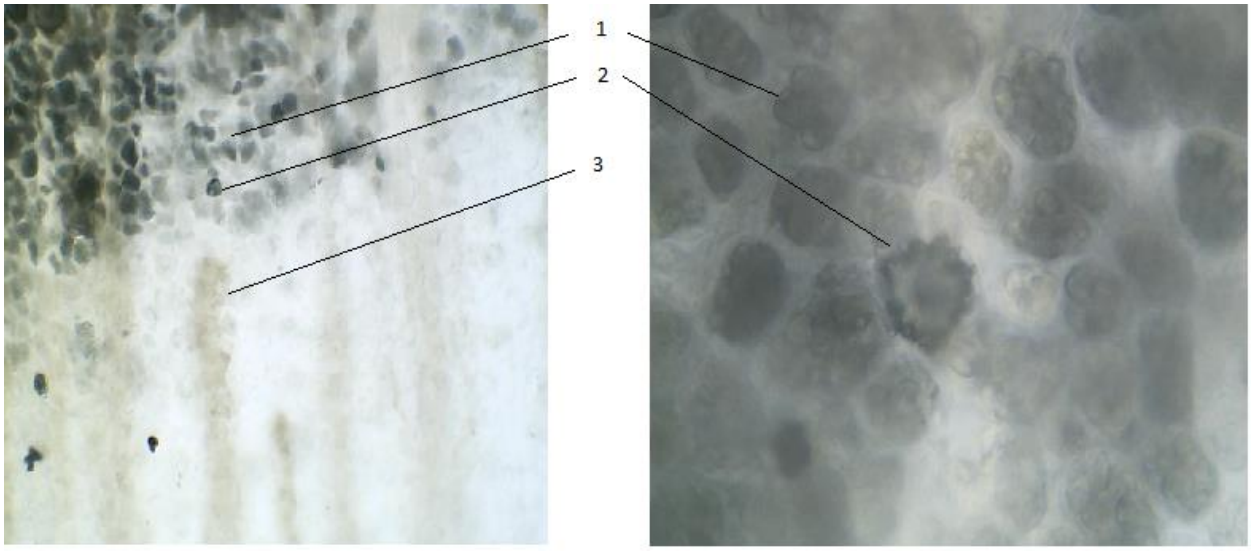


Рисунок 3.23 - Поперечный срез корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) (× 400)
Обозначения: 1 - основная паренхима коровой части корня, окрашенная в красный цвет; 2 – феллодерма; 3 – друза.

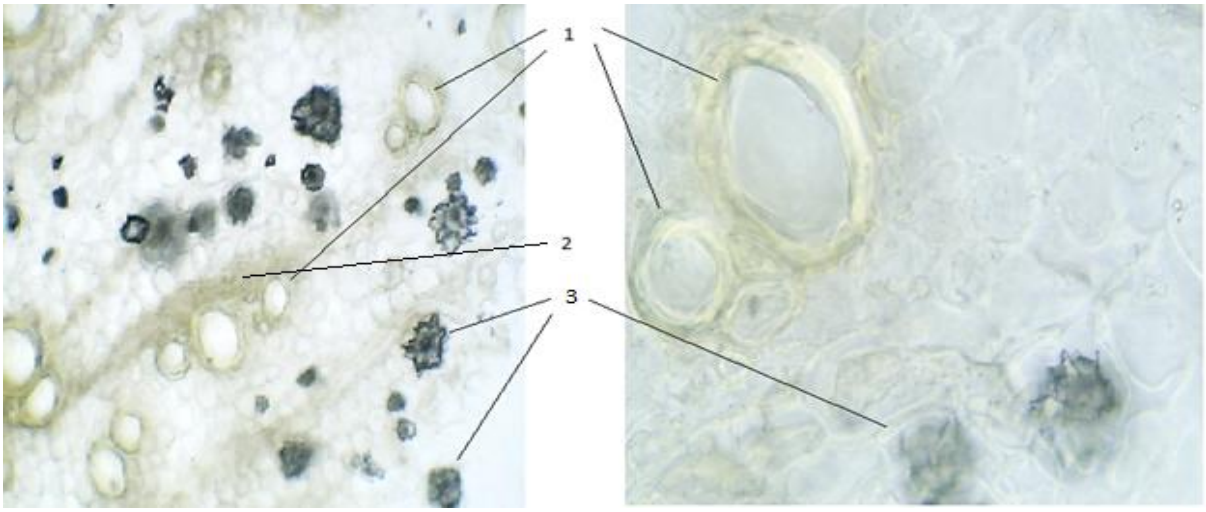
Для корня вторичного строения характерно наличие ярко выраженного камбиального кольца, ярко выделяющегося на поперечном срезе (рис. 3.24). Камбий многорядный. В структуре камбия расположено большое количество друз оксалата кальция. При проведении гистохимических реакций с раствором щелочи, с раствором железоаммониевых квасцов, а также с раствором Люголя, не наблюдается окрашивания, что свидетельствует об отсутствии в данной зоне действующих веществ [128].



А Б

Рисунок 3.24 - Поперечный срез корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.)
А - (× 100); Б - (× 400)
Обозначения: 1- камбий; 2 – друза; 3 – сердцевинный луч.

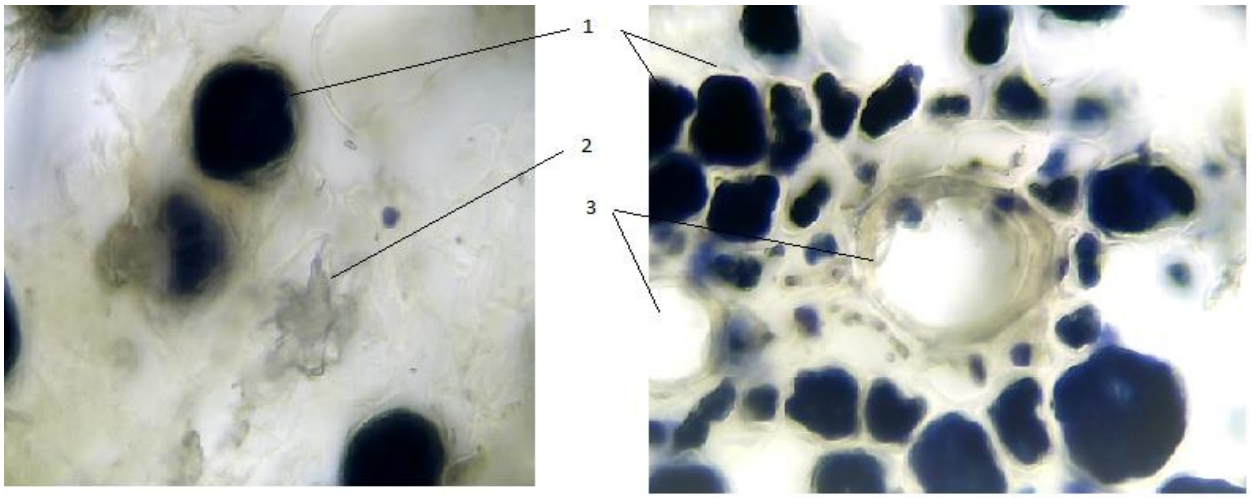
К центру от камбия расположены элементы вторичной ксилемы. Во вторичной ксилеме хорошо заметны широкие первичные радиальные лучи паренхимы в большом количестве, достигающие центра ксилемы (рис. 3.25). В корнях ревеня тангутского большое количество лучей паренхимы или сердцевинных лучей. Сердцевинные лучи узкие, однорядные. Сосуды многочисленные, располагаются как одиночно, так и группами (рис. 3.25) [128].



А Б

Рисунок 3.25 - Поперечный срез корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.)
А - (× 100); Б - (× 400)
Обозначения: 1- сосуды древесины; 2 – сердцевинный луч; 3 – друзы.

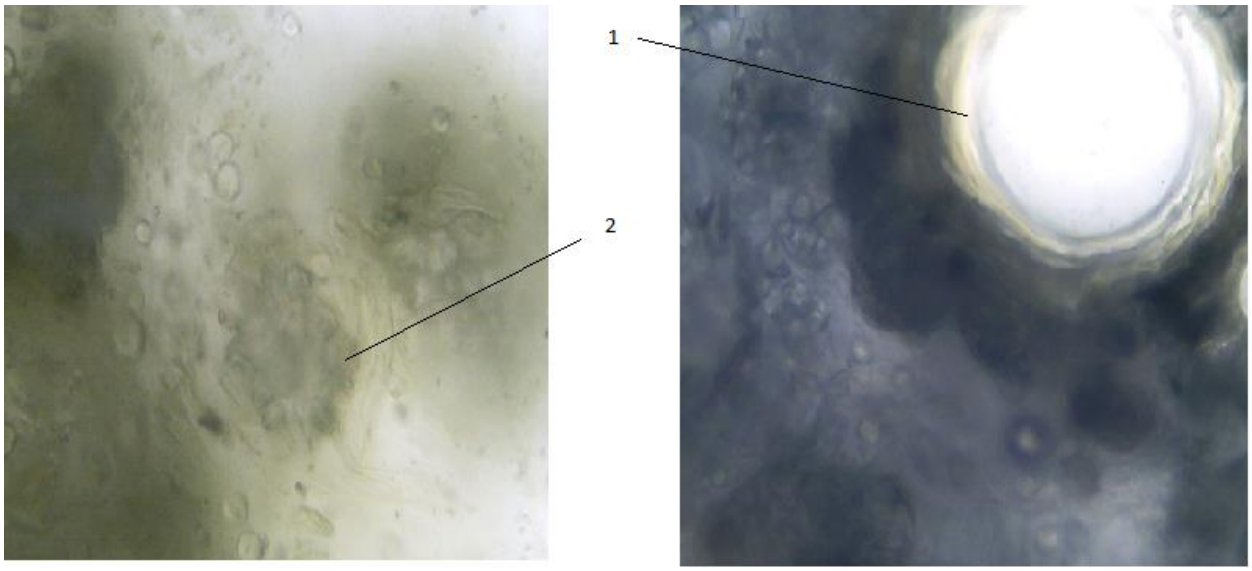
В корнях ревеня тангутского содержится крахмал, который при взаимодействии с раствором Люголя окрашивается в черный цвет. Крахмал диагностируется как в первичной коре, так и во вторичной (рис. 3.26) [128].



А Б

Рисунок 3.26 - Поперечный срез корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.)
А - (× 400); Б - (× 400) (окраска раствором Люголя)
Обозначения: А – первичная кора; Б – вторичная кора; 1- крахмальные зерна; 2 – друза; 3 – сосуды.

При проведении гистохимической реакции на корни ревеня тангутского хорошо диагностируются дубильные вещества, которые при взаимодействии с раствором железоаммониевых квасцов, окрашивают древесину в темно-зеленый цвет, что свидетельствует о наличие группы конденсированных дубильных веществ, а сердцевину в темно-синий цвет, что говорит о наличие группы гидролизуемых дубильных веществ (рис. 3.27) [128].



А Б

Рисунок 3.27 - Поперечный срез корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.)
А - (× 400); Б - (× 400) (окраска раствором Люголя)
Обозначения: А – первичная кора; Б – вторичная кора; 1- крахмальные зерна;
2 – друза; 3 – сосуды.

3.4. Алоэ древовидное (*Aloe arborescens* Mill.)

3.4.1. Ботаническое описание алоэ древовидного

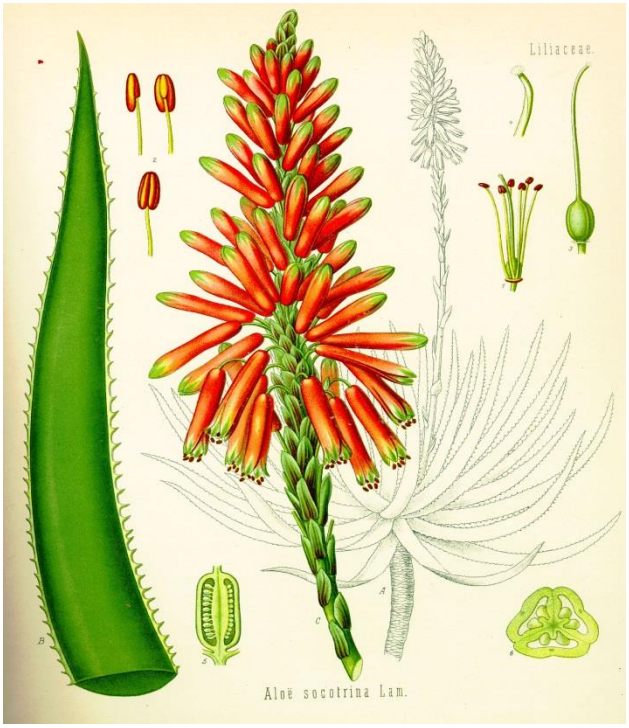


Рисунок 3.28 - Алоэ древовидное (*Aloe arborescens* Mill.): общий вид

Алоэ древовидное (*Aloe arborescens* Mill., сем. *Asphodelaceae)* [266] — вечнозеленое суккулентное растение, широко культивируемое в комнатной и оранжерейной культуре (рис. 3.28). На родине ствол данного растения достигает высоты 4 м. В культуре растение относительно низкорослое (рис. 3.28). Листья очередные, мясистые, сочные, стеблеобъемлющие, мечевидные, длинной от 20 до 65 см. С верхней стороны листья вогнутые, снизу – выпуклые, по краю шиповато-зубчатые. Листья удлиненно-мечевидные с шиповатыми краями. Цветочная кисть высокая, заканчивается длинной кистью красных или желтых красивых цветков с простым венчиковидным околоцветником. На поперечном срезе свежего листа под лупой видно кольцевое расположение проводящих пучков; клетки обширной сердцевины заполнены слизистым содержимым (рис. 3.28) [10, 13, 68, 106, 154, 215, 231, 232, 236].

3.4.2 Ботаническая характеристика видов рода Алоэ

Алоэ — очень разнообразные по своему внешнему облику растения. Преобладают среди них многолетние травы, хотя нередко встречаются также древовидные и кустарниковидные формы, иногда и лианы. Листья этих растений обычно суккулентные, толстые, мясистые, очень сочные, редко слабо

суккулентные или кожистые и жесткие. Они образуют прикорневые или верхушечные (у древесных форм) розетки, в которых располагаются по спирали или иногда двурядно. Отчетливую спираль образуют короткие дельтовидные листья южноафриканского *алоэ многолистного* (*A. polyphylla*), широко известного под названием *спирального алоэ.* У сравнительно немногих видов листья располагаются как на верхушке, так и по всей длине побега. По форме листья бывают ланцетными, линейно-ланцетными, мечевидными, дельтовидными, реже линейными. Края листьев обычно снабжены крепкими шиповидными зубцами. У некоторых видов обе поверхности листьев усажены твердыми колючками. В пазухах листьев образуются простые или разветвленные, иногда очень высокие (до 2—3 м) цветоносы. Очень редко цветоносы бывают центральные, развивающиеся из верхушечной почки. Цветки у алоэ обычно крупные (длиной 3,5—5 см и диаметром около 1 см), красные, оранжевые, желтые или редко белые. Они собраны в кисти, метельчатые или колосовидные соцветия. Кисти варьируют от удлиненных (до 1 м) до сильно укороченных — щитковидных и почти головчатых. У некоторых видов кисти односторонние. Их оси расположены почти горизонтально, а цветки обращены в одну сторону — прямо или косо вверх [5, 29, 154, 184, 214, 215, 230, 231, 232]. Околоцветник сочный, мясистый, обычно трубчатый, иногда колокольчатый, цилиндрический или слегка трехгранный, прямой или несколько изогнутый, внизу нередко почти шаровидно расширенный, обычно актиноморфный, очень редко двугубый. Сегменты околоцветника свободные или (чаще) в разной степени сросшиеся; свободные их части прямые или более или менее сильно изогнуты наружу и имеют более бледную окраску, чем трубка околоцветника, обычно зеленоватую. Тычинок 6, равных или неравных по длине, **с** линейными или продолговатыми пыльниками, прикрепляющимися к нити основанием. В раскрытых цветках тычинки сближены все вместе, примыкая, как и столбик, к стороне околоцветника, обращенной к оси соцветия. Плоды у алоэ большей частью почти цилиндрические кожистые или деревянистые, с многочисленными неправильно 3-х гранными или уплощенными семенами,

окруженными беловатым полупрозрачным крыловидным ариллусом [11, 61, 154, 214, 230, 231, 232,].

Цветки алоэ очень богаты нектаром, вытекающим у основания столбика из септальных нектарников и заполняющим нижнюю часть околоцветника. Яркая окраска цветков и изобилие нектара привлекают разных опылителей. По данным С. Фогеля (1954), большинство видов алоэ являются орнитофильными. Алоэ неустрашимое (*A. ferox*), например, опыляют небольшие птицы-нектарницы. Они садятся на его соцветие ниже цветка, из которого пьют нектар, погружая клюв в околоцветник или на ближайший к соцветию лист. Нектарницы опыляют и другие виды алоэ, в частности, алоэ мпоголистное, алоэ дихотомическое (*A. dichotoma*). Последний вид посещают и пчелы, которые опыляют также алоэ бело-цветковое (*A. albiflora*) и, по-видимому, многие другие виды. Алоэ наименьшее (*A. minima*) опыляют дневные бабочки, а алоэ Сюзанны (*A. suzannae*) — ночные. Вначале из распустившегося цветка показываются тычинки с уже вскрывшимися пыльниками, несущими обильную комковатую (не сыпучую) пыльцу. Вскоре выставляется и столбик с маленьким головчатым рыльцем, которое располагается на одном уровне с пыльниками или незначительно выше или ниже их. При таком расположении тычинок и столбика не исключено попадание пыльцы на рыльце того же цветка. Но, по-видимому, вначале своей экспозиции рыльце еще не зрелое и не способно воспринять пыльцу. Позже, вероятно, происходит совпадение мужской и женской фаз цветения, и в это время возможно самоопыление, которое происходит, по-видимому, в ограниченных пределах из-за наличия комковатой пыльцы. Спустя некоторое время после одновременной экспозиции тычинок и столбика можно наблюдать, что из цветка высовывается лишь один, несколько удлинившийся столбик. Если цветок в этой стадии цветения вскрыть, то можно увидеть, что тычинки находятся внутри околоцветника. Произошло же это потому, что их первоначально прямые нити зигзагообразно извились, в результате чего длина их сократилась и тычинки оказались втянутыми в околоцветник. Оставшись один, столбик может теперь опылиться только пыльцой с другого растения или с

другого цветка своего растения [5, 11, 12, 13, 29, 61, 95, 106, 154, 214, 215, 230, 231, 232, 236].

Виды алоэ, подобно большинству представителей семейства Асфоделовых, являются растениями-баллистами. При раскачивании цветоноса ветром или животными семена из раскрывшихся плодов высыпаются на землю неподалеку от материнского растения. Крыловидный ариллус придает семенам некоторую летучесть и способствует их лучшему рассеиванию. Семенное возобновление является единственным способом размножения у большинства алоэ. Но некоторые виды, например, *алоэ настоящее* (*A. vera*) и алоэ пестрое (*A. variegata*), размножаются также и вегетативно посредством подземных столонов, которые, выходя на поверхность земли, развивают молодые розетки. Алоэ луковичкопосное (*A. bulbillifera*) является живородящим. В его соцветии, в пазухах нижних прицветников вместо цветков развиваются луковички, которые, падая на землю, при благоприятных условиях могут дать начало новым растениям [13, 154, 215, 219, 231, 232].

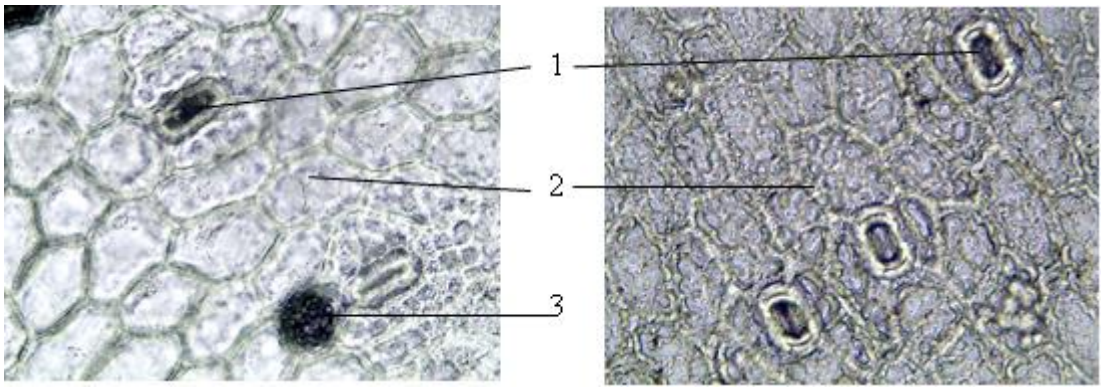
3.4.3. Анатомо-гистологическое исследование листьев и побегов алоэ древовидного

В качестве значимых анатомо-гистологических признаков можно выделить клетки мякоти листа: округлые, крупные, бесцветные. При рассмотрении листа с поверхности видны клетки верхнего эпидермиса с малоизвилистыми или почти прямыми стенками, нижнего – извилистые [127, 253]. Поверхность листа покрыта восковым слоем, состоящим из сферических, выпуклых бляшек. Оболочка клеток тонкая, легко сминается при приготовлении среза, поэтому часто клетки имеют неправильную форму, разорваны. Игольчатые кристаллы оксалата кальция (рафиды) располагаются по одному или несколько кристаллов вместе (рис. 3.29).

Снаружи лист покрыт толстой кутикулой, валиками вздымающейся вокруг устьиц. Эпидерма однослойная, устьица с 4 околоустьичными клетками, погружены [127, 253].

Мезофилл дифференцирован на 2-4-х слойную перефирическую зону, представленную мелкими хлорофиллоносными клетками, и центральную зону, состоящую из крупных тонкостенных клеток, запасающих воду, слоистость которых не выражена [127, 253].

По границе между зонами мезофилла проходят коллатеральные закрытые пучки, снабженные со стороны флоэмы неполными обкладками из бесцветных паренхимных клеток, а со стороны ксилемы - секреторными клетками (рис. 3.29) [127, 253].



А Б

Рисунок 3.29 - Препарат листа алоэ древовидного (х400)
Обозначения:
А (верхний эпидермис): 1 – устьице; 2 – хлоренхима; 3 – секреторная клетка;
Б (нижний эпидермис): 1 – устьице; 2 – хлоренхима.

Наружная стенка эпидермальных клеток очень толстая, кутинизированная. Эпидермисы подстилаются слоем хлоренхимы, состоящих из округлых клеток, которые содержат рафиды. Внутренняя часть листа состоит из очень крупной паренхимы, содержащей клеточный сок. На границе хлоренхимы с паренхимой располагаются в 1 ряд, на расстоянии друг от друга коллатеральные закрытые проводящие пучки с флоэмой, обращенной к эпидермису. К флоэме снаружи примыкают крупные клетки с коричневатым, мелкозернистым содержимым – так называемые алоиновые клетки. Количество этих клеток прямо пропорционально величине проводящего пучка (рис. 3.30) [127, 253].

Таким образом, на поперечном срезе листа алоэ видны: толстостенный эпидермис, палисадная ткань (хлоренхима), крупные клетки мезофилла со слизистым содержимым и рафидами, закрытые коллатеральные проводящие

пучки, обращенные ксилемой внутрь, флоэмой к наружи; вокруг флоэмы располагается слой «алоиновых» клеток, содержащих желтый сок (рис. 3.30) [127, 253].

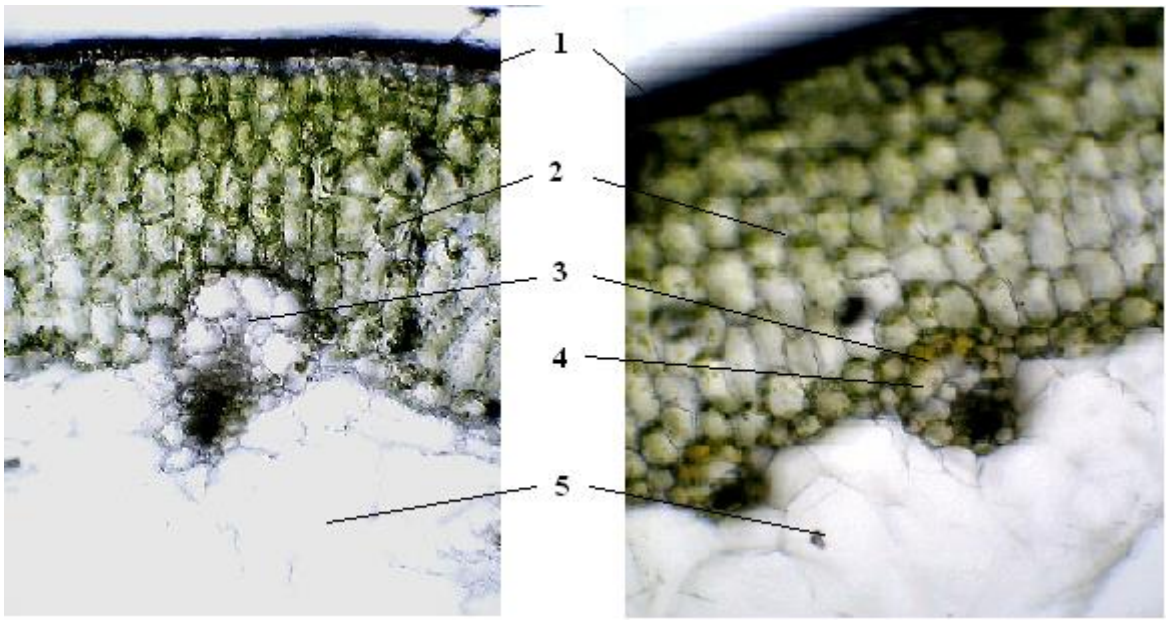


Рисунок 3.30 - Поперечный срез листа алоэ древовидного (х400)
Обозначения:
1 – эпидермис; 2 – палисадная ткань; 3 - закрытый проводящий пучок;
4 – «алоиновые» клетки; 5 – паренхима.

Поперечный срез побега алоэ не имеет классического строения. Листья алоэ древовидного формируют побег. Нами установлено следующие особенности строения побегов: строение поперечного среза побегов по структуре отражает анатомическое строение листа, с недостаточно сформировавшимися алоиновыми клетками, возможно с их отсутствием или с трудность микроскопической диагностики. На поперечном срезе побега алоэ диагностируется слой эпидермы. Субэпидермально располагается слой клеток колленхимного характера. Ближе к периферии находятся слои пластинчатой колленхимы, а глубже - уголковой. Под колленхимой лежит небольшой слой паренхимы первичной коры. Первичная кора содержит в ряде вытянутых вдоль стебля клеток пучки рафид или кристаллов. На границе колленхимы с паренхимой располагаются в 1 ряд, на расстоянии друг от друга коллатеральные закрытые проводящие пучки с флоэмой, обращенной к эпидермису (рис. 3.31). В паренхиме содержится большое количество рафид или кристаллов (рис. 3.32) [127, 253].

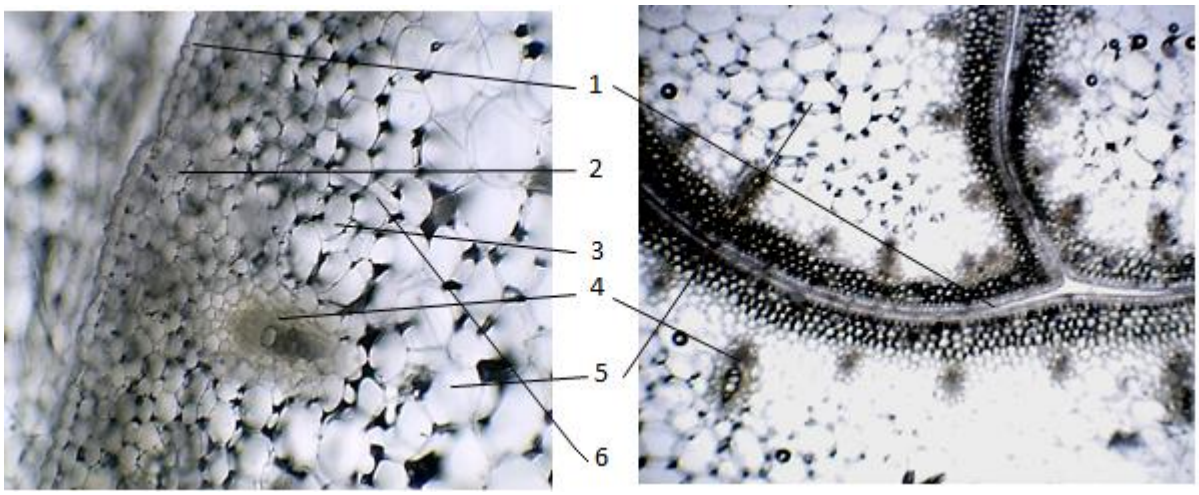


Рисунок 3.31 - Поперечный срез побега алоэ древовидного (х400)

Обозначения:

1 – эпидерма; 2 – колленхима; 3 – паренхима первичной коры; 4 – закрытый проводящий пучок; 5 – крупноклеточная паренхима центрального цилиндра; 6 - кристаллы.

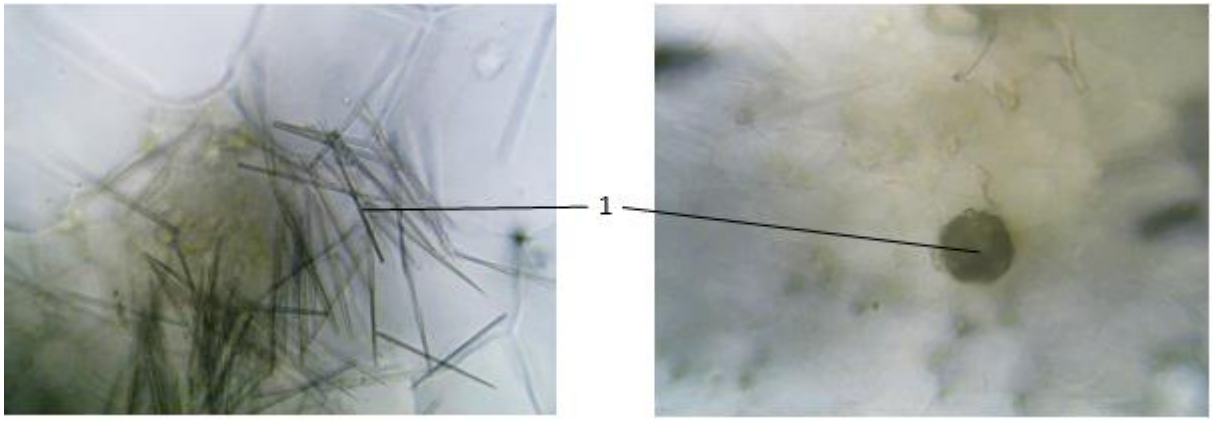


Рисунок 3.32 - Поперечный срез побега алоэ древовидного (х400)

Обозначения:

1 – Пучки рафид или кристаллов в паренхиме побега.

3.5. Крушина ломкая (*Frangula alnus Mill.*)

3.5.1. Ботаническое описание крушины ломкой

Рисунок 3.33 - Крушина ломкая (*Frangula alnus* Mill.): общий вид

Крушина ломкая (*Frangula alnus* Mill.. сем. *Rhamnaceae*) [266] - кустарник или деревце высотой до 7 м с гладкой, почти черной корой; ветки тонкие, годичные красно-коричневые с ланцетными белыми чечевичками; побеги голые или буровато опушенные; почки коричневые шелковисто волосистые; листья плотно бумажистые, темно-зеленые, слабо глянцевитые и голые, сверху желтовато-зеленые, голые или по жилкам ржаво опушенные снизу, от удлиненно эллиптической до широко обратно-яйцевидной формы, 3-8 см в длину и 1.5-4,5 см в ширину, редко - до 12 см в длину и 6 см в ширину, внезапно суженные в короткое острие или округлые, при основании цельнокрайние, с 7-10 парами слабо изогнутых жилок, на коротких, до 1,5 см в длину черешках [12, 32, 45, 88, 119]. Цветки по 2-7 в пазухах листьев, узко колокольчатые, 2,5-3,5 мм в длину, снаружи желтоватые, голые или коротко опушенные, внутри желтые, голые, на цветоножке около 1 см длины; плод шаровидный около 8 мм (редко до 10 мм) в диаметре, сначала малиново-красный, потом фиолетово-черный с тремя треугольно линзовидными, около 5 мм в длину, гладкими, коричневыми «косточками», с клювовидным узким носиком (рис. 3.33) [20, 69, 154, 171, 231, 232, 261, 259].

3.5.2. Ботаническая характеристика видов рода Крушина

Цветки собраны в пазушных полузонтиках или пучках, обоеполые, пятичленные; чашечка колокольчатая, мясистая, с яйцевидно треугольными прямыми долями; лепестки ноготковые, короткие и широкие, охватывающие тычинки; столбик простой с трехлопастным рыльцем; завязь трехгнездная; плод

сочный, костянковидный, с тремя слабоспаянными между собой «косточками»; семена лизовидные с хрящевато клювовидным носиком без борозды и с толстыми выпуклыми семядолями, не входящими при прорастании из тонкой плотной, нераскрывающейся оболочки (эндокарпа) [5, 20, 106, 290, 310].

Виды рода Крушина - кустарники или небольшие деревца с очередными, неколючими ветвями, голыми (без чешуй) с почками и листьями с перисто параллельным жилкованием. Семена распространяются птицами. Преимущественно американский и субтропический род, примерно с 50 видами [13, 95, 291, 307, 311].

3.5.3. Анатомо-гистологическое исследование порошка коры крушины ломкой

При рассмотрении порошка коры крушины под лупой (10 х), видна смесь частиц коры желтовато-коричневого цвета с коричневыми, темно-коричневыми, серо-коричневыми, темно-серыми, серыми вкраплениями, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм (рис. 3.34) [149, 242].

Рисунок 3.34 – Внешние признаки порошка коры крушины ломкой

Пробка коры крушины темно-коричневого цвета. При исследовании анатомических признаков установлено (рис. 3.35), что клетки пробки коры

крушины ломкой имеют квадратную форму, клеточная стенка прямая, равномерно утолщенная [149, 242].

У крушины ломкой паренхима первичной коры хорошо развита и содержит слизесодержащие вместилища, что является отличительным анатомо-гистологическим признаком (рис. 3.35) [149, 242].

При микроскопическом изучении порошка крушины ломкой обнаружены сердцевинные лучи с кристаллоносной обкладкой и друзы оксалата кальция, игольчатой формы (рис. 3.35) [149, 242].

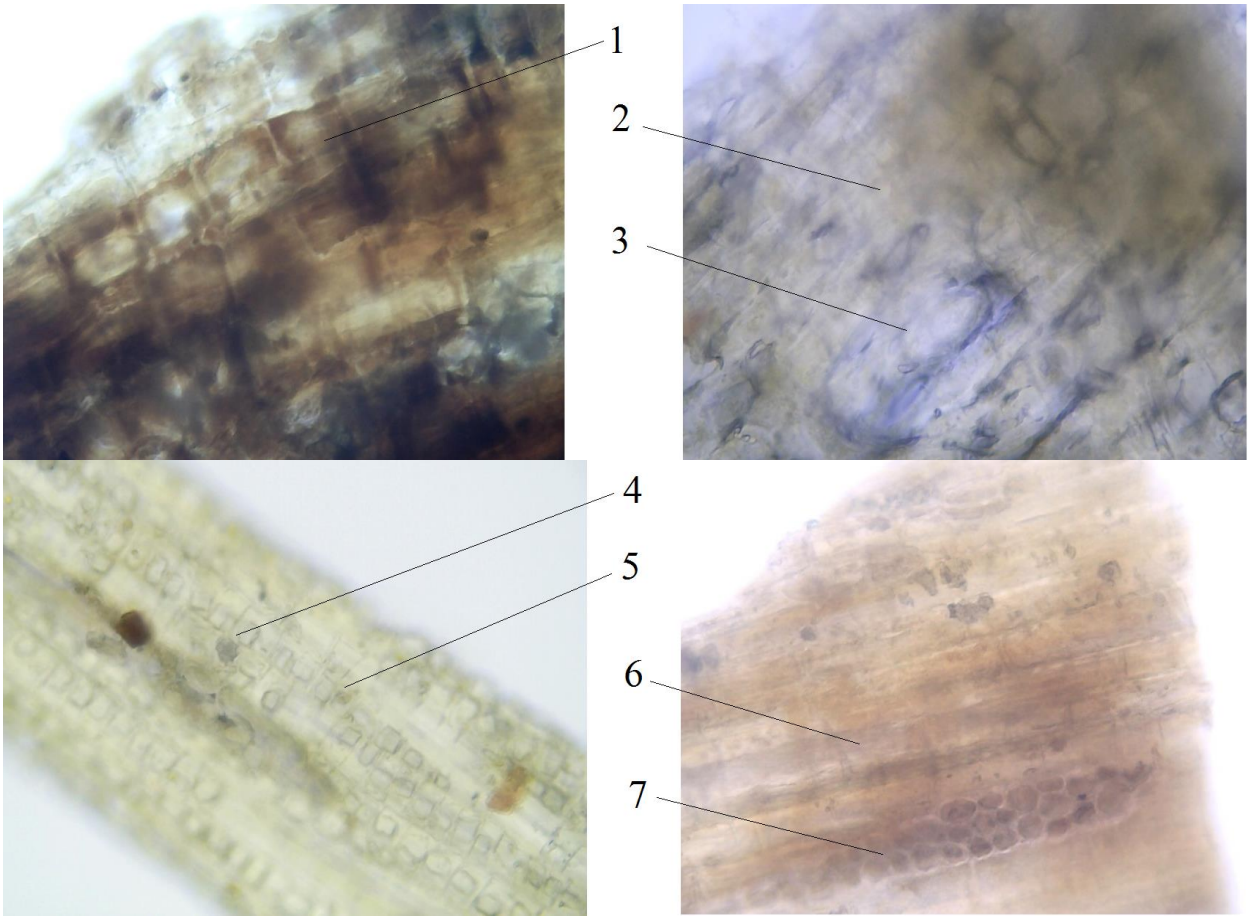


Рисунок 3.35 – Порошок коры крушины ольховидной (х 40)
Обозначения:
1 – пробка; 2 – паренхима первичной коры; 3 – слизесодержащее вместилище; 4 – друза; 5 – сердцевинный луч; 6 – лубяные волокна; 7 – ткани вторичной коры.

3.6. Крушина слабительная (*Rhamnus cathartica* L.)

3.6.1. Ботаническое описание крушины слабительной

Рисунок 3.36 - Крушина (жостер) слабительная (*Rhamnus cathartica* L.): общий вид

Крушина (жостер) слабительная (*Rhamnus cathartica* L., сем. *Rhamnaceae*) [266] - сильно ветвистый раскидистый кустарник или небольшое дерево до 8 м высотой, с шероховатой растрескивающейся и отслаивающейся, почти черной корой; ветви колючие; супротивные, с красно-коричневой блестящей, как у *Prunus*, корой; почки продолговато яйцевидные, 3-7 мм длинной, фиолетово-коричневые или бурые; листья супротивные на молодых побегах и собраны в пучки на плодоносных веточках, бумажистые или плотно бумажистые, сверху ярко-зеленые или сероватые, матовые или слабо глянцевые, снизу светлее, голые или с обеих сторон (но больше снизу) тонко опушенные (*F. pubescens* Lge.), очень варьирующие по форме, от эллиптических до округлых, но обычно овальные, 3-5 см длинной 1.5- 3 см шириной, коротко заостренные, тупые или с коротким острием, при основании широко клиновидные, округлые, реже клиновидные или широко сердцевидные, часто городчато пильчатые, с 3 парами сильных выступающих снизу жилок, от нижней половины дуговидно сходящихся к верхушке, на сильных черешках 1-2 см длиной (2,5-3,0 см длиной – *F. longipetiolata* Grub.). Цветки узко колокольчатые, 4-5 мм длиной, с треугольно ланцетными, острыми, большей частью отогнутыми долями черешка, на цветоножке 5-8 мм длиной по 10-15 в пучке; плоды шаровидные, 6-8 мм в диаметре, зрелые, черные, блестящие, по 3-10 вместе; семена яйцевидные, 5 мм длиной, с узкой боковой

щелью, с выпуклой спинкой и со слабой гранью на брюшной стороны, в тонкой, плотной нераскрывающейся оболочке (рис. 3.36) [25, 106, 213, 274, 310, 311, 335].

3.6.2. Ботаническая характеристика видов рода Жостер

Цветки в пазухах листьев пусками или (реже) в кистевидных соцветиях, большей частью раздельнополые – двудомные, 4-, редко 5-членные; чашечка воронковидно-колокольчатая с треугольными долями; лепестки очень мелкие, узко ноготковые, охватывающие тычинки или вовсе отсутствуют; завязь, как правило, 2-3-гнездная; плод сочный костянковидный, с 2-3 «косточками»; семена овальные, слегка сдавленные или округло трехгранные, со спинной или боковой бороздой и тонкими подковообразно свернутыми семядолями, при прорастании выступающими из тонкой хрящеватой оболочки (эндокарпа), раскрывающейся по внутреннему шву [25, 106, 171, 335]. Кустарники или небольшие деревья с почти супротивными или очередными ветвями и листочками, и почками с хорошо развитыми чешуями; семена распространяются птицами. Огромный (до настоящего времени описано более 150 видов), центральный род семейства, представлены в наибольшем разнообразии и числе видов в Восточной Азии [290, 291, 307, 310, 311].

3.6.3. Анатомо-гистологическое исследование порошка плодов крушины слабительной

При рассмотрении порошка плодов жостера слабительного под лупой (10 х), видна смесь частиц плодов коричневого цвета с коричневыми, темно-коричневыми, серо-коричневыми вкраплениями, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм (рис. 3.37).

Рисунок 3.37 – Внешние признаки порошка плодов жостера слабительного

В изученном порошке плодов жостера слабительного обнаружены фрагменты экзокарпия, мезокарпа, эндокарпа, обрывки семенной кожуры и ткани зародыша. Порошок плодов жостера слабительного представляет собой совокупность частиц с достаточно хорошо идентифицируемыми диагностически значимыми элементами. А именно фрагменты экзокарпа, состоящего из мелких, довольно толстостенных, полигональных клеток; колленхима, представленная несколькими рядами клеток, причем клетки колленхимы двух наружных рядов крупнее и более толстостенные, в них, как правило, имеется пигмент коричневого цвета, дающий реакцию на дубильные вещества (с раствором алюмо-калиевых квасцов); паренхима мезокарпа, где разбросаны одиночные или собранные группами идиобласты с коричневым содержимым; эндокарпий представлен рядом мелких кристаллоносных клеток, покрывающих ряд толстостенных склереид (рис. 3.38).

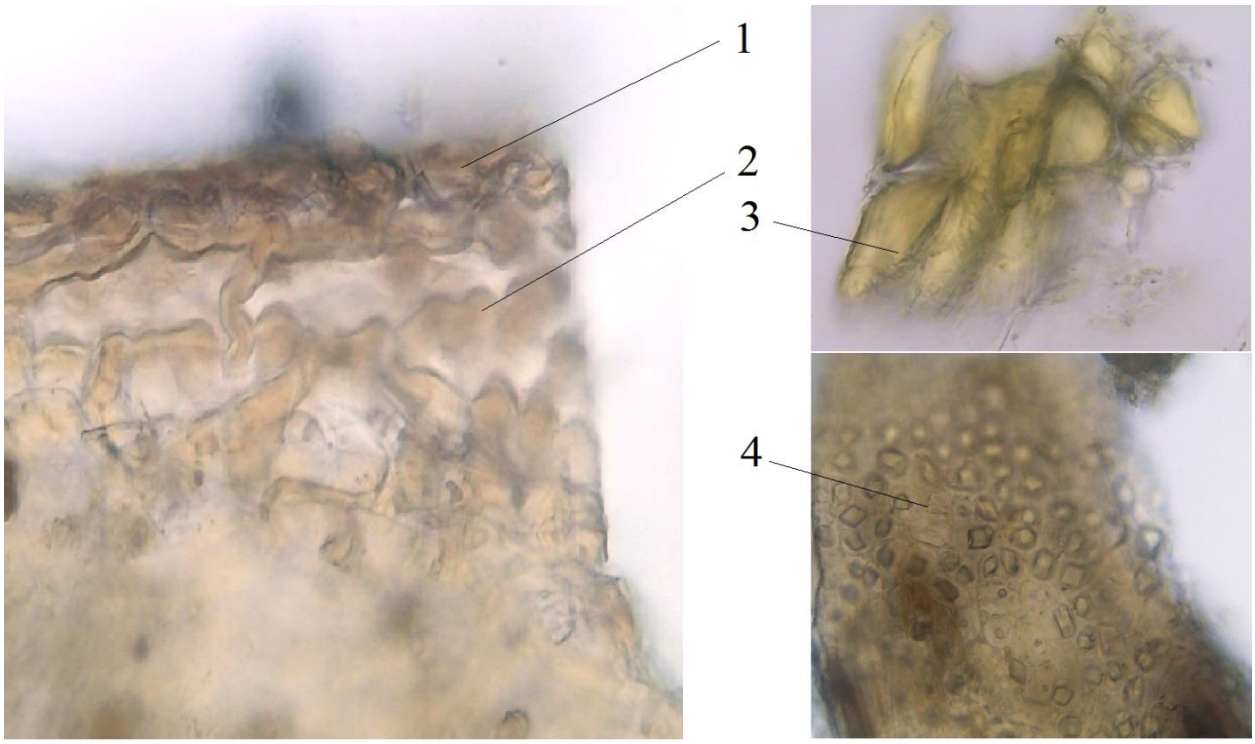


Рисунок 3.38 – Порошок плодов жостера слабительного (х 40)

Обозначения:

1 – экзокарпий; 2 – колленхима; 3 – клетки паренхимы с пигментом; 4 – эндокарпий.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. Проведено сравнительное исследование морфолого-анатомических признаков образцов лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные – листьев и плодов сенны александрийской (*Senna alexandrina* Mill.), корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.), листьев и побегов алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.), корней марены красильной (*Rubia tinctorum* L.), порошка коры крушины ломкой (*Rhamnus cathartica* L.), порошка плодов жостера слабительного (*Rhamnus cathartica* L.), дана анатомическая характеристика сырья, которая может быть использовано для определения подлинности ЛРС данных растений.

2. Проведен сравнительный анализ ряда цветных цифровых фотографий, отражающих морфологическое строение и микроскопические признаки, позволяющие детализировать особенности строения, характерные для образцов лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные.

3. В ходе микроскопических исследований были подтверждены основные анатомо-гистологические признаки, характерные для каждого вида сырья, а также выявлены дополнительные диагностические анатомо-гистологические признаки: особенностям анатомии и гистологии черешка листьев, стручка боба и семени сенны александрийской; особенности локализации антраценпроизводных и дубильных веществ в корнях ревеня тангутского, марены красильной; недостаточно сформировавшиеся алоиновые клетки у побегов алоэ древовидного, что также может быть использовано в целях идентификации и определения подлинности данных растений и сырья.

4. Результаты научных исследований коры крушины ломкой и плодов жостера слабительного нашли свое отражение в Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIII издания (Крушины ломкой кора – ФС.2.5.0021.15; Жостера слабительного плоды – ФС. 2.5.0014.15)

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА, ВЫДЕЛЕНИЕ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ФАРМАКОПЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ

Исследование химического состава сырья фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные, а именно листьев, плодов сенны александрийской и корней марены красильной проведено для развития концепции определения ведущей группы биологически активных соединений (БАС) в отношении соединений антраценпроизводных, оптимизации использования растений отечественной и зарубежной флоры как доступных источников сырья.

Отсутствие единых подходов к стандартизации сырья сенны александрийской и марены красильной обусловлено недостаточной изученностью их химического состава и противоречивой трактовкой доминирующих компонентов. В связи с этим представляло интерес изучить химический состав данного лекарственного растительного сырья, провести сравнительный анализ содержания основных групп БАВ в исследуемых видах сырья.

Предварительный фитохимический анализ показал наличие в исследуемых объектах основных групп БАВ: антраценпроизводных, флавоноидов, дубильных веществ и других фенольных соединений.

Антраценпроизводные, согласно данным предварительного фитохимического анализа и литературным источникам, в исследуемых объектах являются доминирующими, поэтому выбраны нами для дальнейшего изучения.

4.1. Исследование химического состава листьев сенны александрийской

4.1.1. Выделение и идентификация биологически активных веществ из листьев сенны александрийской

Объектом исследования служил промышленный образец листьев сенны (ОАО «Красногорсклексредства»), производящее растение которого идентифицировано как кассия остролистная. Препаративное выделение веществ осуществляли из листьев кассии остролистной с использованием колоночной хроматографии [33]. Воздушно-сухое сырье (100 г) подвергали исчерпывающему экстрагированию 70 % этиловым спиртом, сочетая при этом способ мацерации (24 ч) с последующей экстракцией при температуре 85-90 ^{o}C. Водно-спиртовые экстракты упаривали под вакуумом до густого остатка (около 30 мл). Сгущенный экстракт высушивали на силикагеле L 40/100 и полученный порошок (экстракт + силикагель) наносили на слой силикагеля, сформированный в хлороформе. Хроматографическую колонку элюировали хлороформом и смесью хлороформ-этиловый спирт в различных соотношениях (99:1; 97:2; 97:3; 95:5; 93:7; 90:10; 85:15; 80:20; 70:30, 60:40, 50:50). Контроль за разделением веществ осуществляли с помощью ТСХ-анализа на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» в системах хлороформ-этанол (9:1), хлороформ-метанол-вода (26:14:3), а также *н*-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4:1:2). Фракции, содержащие вещества **1-3,** с целью их выделения подвергали рехроматографированию на колонке с силикагелем L 40/100 с использованием смеси хлороформ-этиловый спирт в градиентном режиме. Окончательную очистку вещества **3** осуществляли рехроматографией на колонке с полиамидом «Woelm» (Германия), элюируя смесями воды и этилового спирта в различных соотношениях, а затем водным раствором гидрокарбоната натрия с последующим осаждением целевого соединения из элюата подкислением 10 % раствором хлороводородной кислоты до слабокислой среды (pH около 6,0).

Спектры ЯМР ^{1}H и ЯМР ^{13}C получали на приборе «Bruker AM 300», масс-спектры снимали на масс-спектрометре «Kratos MS-30», регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena).

В результате исследования компонентного состава листьев кассии выделены три доминирующих вещества - 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (**1**) (производное нафталина), кемпферол-3-О-гентиобиозид (**2**) (флавоноид) [21, 325] и 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (**3**) (антрахинон) (рис. 4.1) [146, 170, 277].

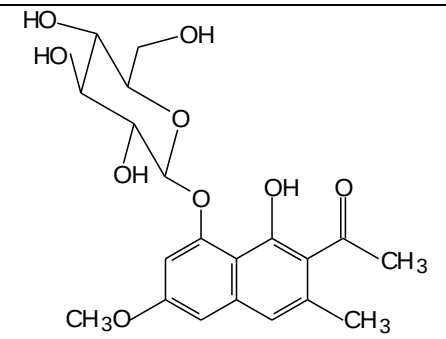
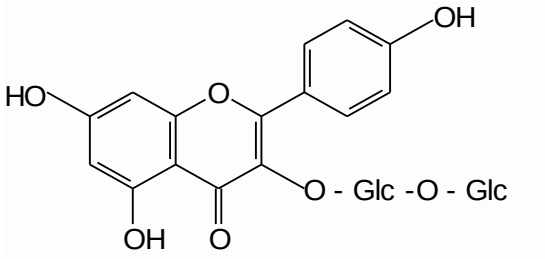
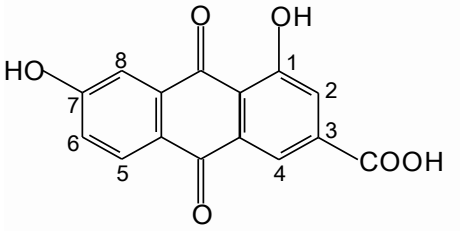
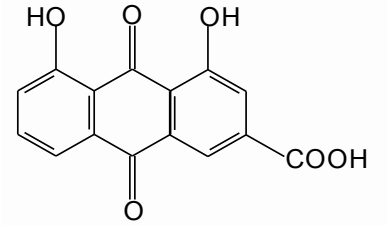
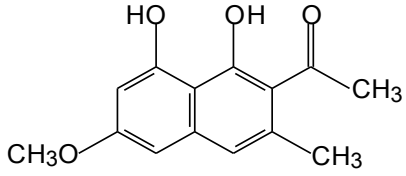
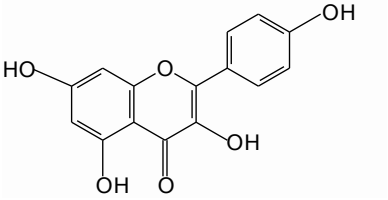
	
8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (**1**)	Кемпферол-3-О-гентиобиозид (**2**)
	
1,7-Дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (**3**)	1,8-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (Реин) (**4**)
	
Торахризон (**5**)	Кемпферол (**6**)

Рисунок 4.1 – Основные компоненты листьев кассии остролистной

С использованием ТСХ обнаружено, что именно соединения **1-3** являются доминирующими компонентами листьев сенны. На наш взгляд, обнаружение методом ТСХ соединений **1-3**, диагностически значимых для листьев сенны,

является перспективным подходом в плане идентификации сырья и препаратов данного растения. Это тем более важно, что в силу невысокого содержания сеннозида А и В в листьях кассии [278], определение данных соединений методом ТСХ весьма проблематично. Этот вывод согласуется с результатами исследований зарубежных ученых [314], в соответствии с которыми доминирующим антраценпроизводным листьев кассии является реин (**4**). При этом обращает на себя внимание тот факт, что, по нашим данным, доминирующим антраценпроизводным соединением листьев кассии является не реин (**4**), а близкий к нему по хроматографической подвижности, физико-химическим и спектральным характеристикам антрахинон - 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (**3**), который, также как и реин (4), имеет базовый пик иона в масс-спектре с m/z 284 (рис. 4.2). Этот вывод сделан на основании данных ^{1}H-ЯМР-спектра 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинона (**3**): наличие при 11,91 м.д. одного уширенного синглетного сигнала, принадлежащего 1-ОН-группе, в сочетании с характером сигналов ароматических протонов при С-5, С-6 и С-8 (рис. 4.3). По литературным данным, в ^{1}Н-ЯМР-спектре реина характерными являются два синглетных сигнала в области 12,0 м.д. и 11,9 м.д. 1-ОН-группы и 8-ОН-группы [305]. Структура соединения 3 подтверждается также и данными ^{13}С-ЯМР-спектра, в котором обнаруживаются сигнал С-1 при 160.99 м.д. и сигнал С-8 при 124.03 м.д. (рис. 4.4).

К доминирующим фенольным компонентам относятся также 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (**1**) и кемпферол-3-О-гентиобиозид (**2**), которые, на наш взгляд, имеют диагностическое значение в плане идентификации сырья кассии. Интересно, что, по данным зарубежных ученых, и в условиях ВЭЖХ кемпферол-3-О-гентиобиозид (**2**) является доминирующим соединением [278].

В условиях кислотного гидролиза 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (**1**) и кемпферол-3-О-гентиобиозид (**2**) расщепляются с образованием торахризона (**5**) и кемпферола (**6**) соответственно. При этом в гидролизате в обоих случаях обнаружен одинаковый моносахарид – глюкоза. Наличие биозы гентиобиозы, содержащей две молекулы глюкозы, подтверждается данными ^{1}Н-ЯМР-спектра соединения **2**, в котором обнаружены сигналы аномерных протонов С-1^{11} и С-1^{111}

при 5.35 м.д. (рис. 4.9)(1H, д, 7 Гц, H-1^{11} глюкозы), 4.03 м.д. (1H, д, 7 Гц, H-1^{111} глюкозы). Присоединение биозы к 3-OH-группе подтверждается данными УФ-спектров: наличие батохромного сдвига коротковолнового максимум поглощения в присутствии NaOAc (+5 нм) и батохромного сдвига длинноволнового максимум поглощения в присутствии +$A1C1_3$ (+45 нм).

Сигнал аномерного протона глюкозы в соединении 1 обнаруживается в ЯМР-спектре при 5.02 м.д. (1H, д, 7 Гц, H-1^{11} глюкозы). Кроме того, характерными сигналами в ЯМР-спектре данного соединения являются трехпротонный синглетный сигнал при 2.25 м.д. (3H, с, ароматическая CH_3 при C-3), трехпротонный синглетный сигнал ацетоксигруппы при 2.53 м.д. (3H, с, $COCH_3$ при C-2), а также трехпротонный синглетный сигнал метоксигруппы при 4.01 м.д. (3H, с, ароматическая OCH_3-группа при C-6), 3.1-4.5 (6H глюкопиранозы), 5.02 (1H, д, 7 Гц, H-1^1 глюкопиранозы), 6.92 (1H, д, 2 Гц, H-7), 7.05 (1H, с, H-4), 6.70 (1H, д, 2 Гц, H-5), 9.58 (1H, с, OH-группа при C-1) (рис. 4.5). Кроме того, в масс-спектре обнаруживается молекулярный ион соединения **1** с m/z 408 (18%) и молекулярный ион его агликона с m/z 246 (82 %) (рис. 4.5).

Структура 8-O-β-D-глюкопиранозид торахризона впервые подтверждается данными ^{13}C-ЯМР-спектра, в котором обнаруживаются характерные сигналы при 204,20 м.д. (CO), 157,33 (C-6), 156,67 (C-8). 151,77 (C-1), 102,96 (C-1^1 глюкозы), 55,44 (OCH_3), 32,12 (CH_3 при CO) и 19,54 (CH_3 при C-3) (рис. 4.7).

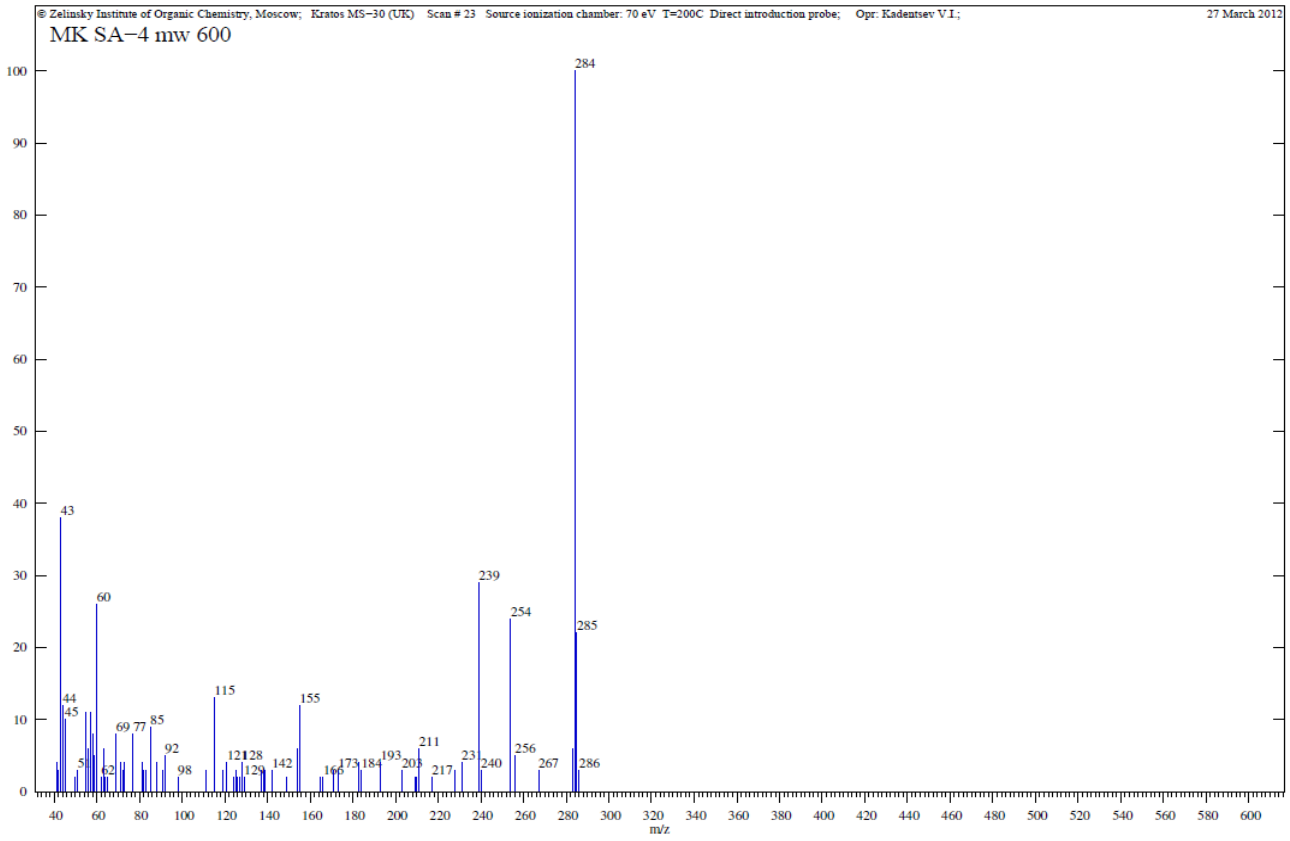


Рисунок 4.2 - Масс-спектр 1,7-Дигидрокси-3-карбоксиантрахинона (неореина)

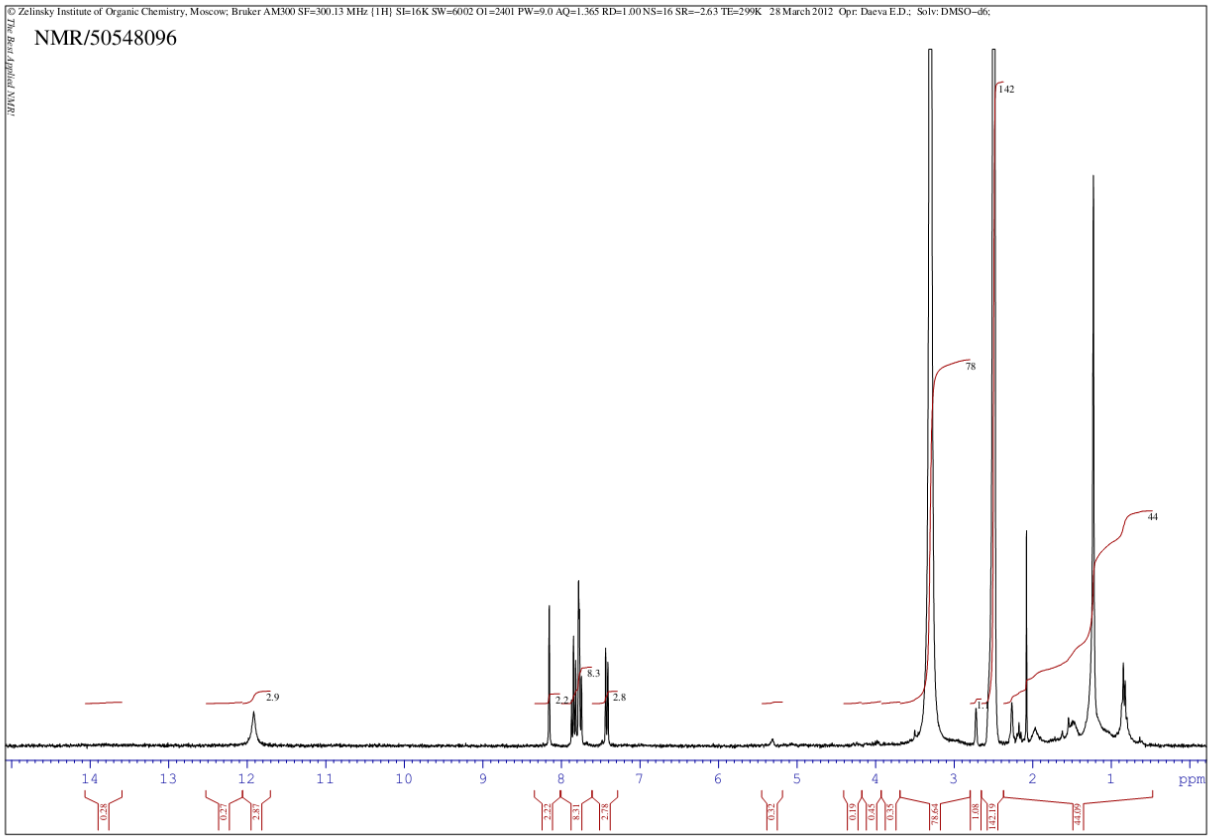


Рисунок 4.3 - ^{1}H-ЯМР спектр 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинона (неореина)

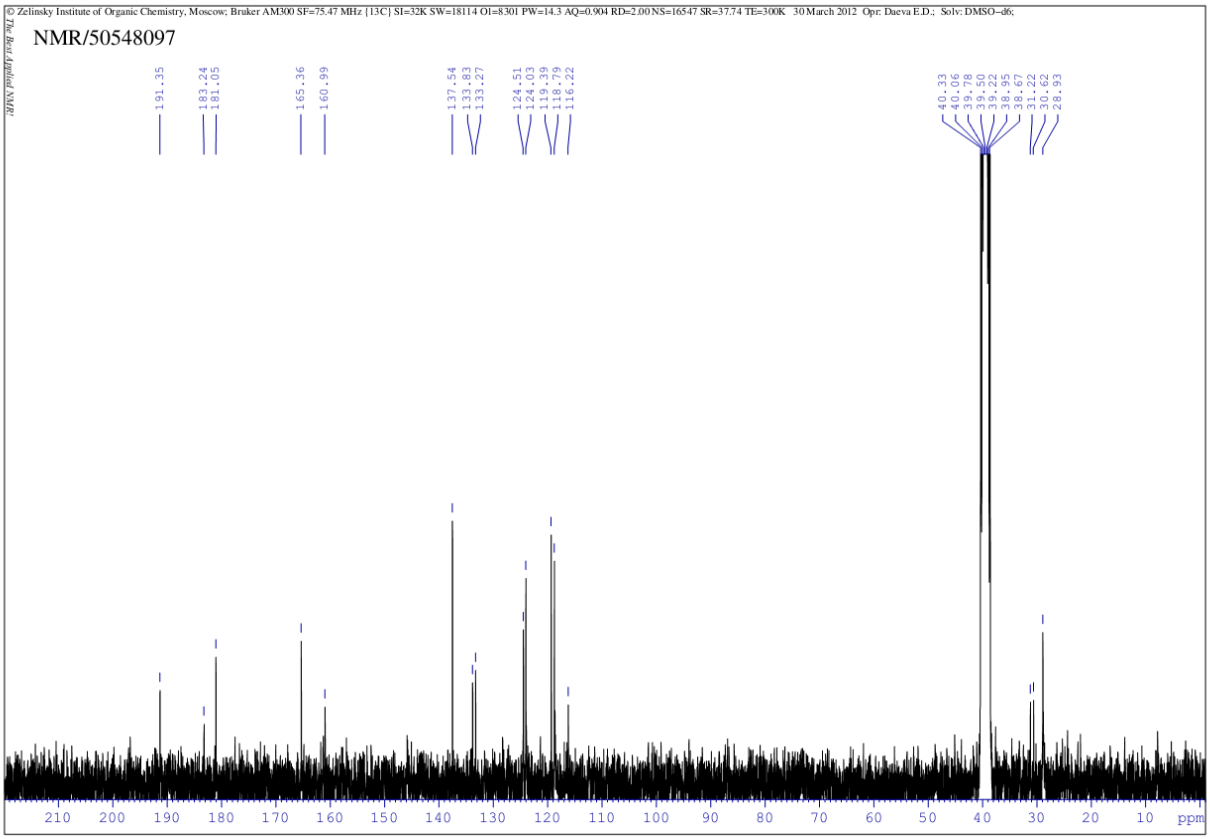


Рисунок 4.4 - ^{13}C-ЯМР спектр 1,7-Дигидрокси-3-карбоксиантрахинона (неореина)

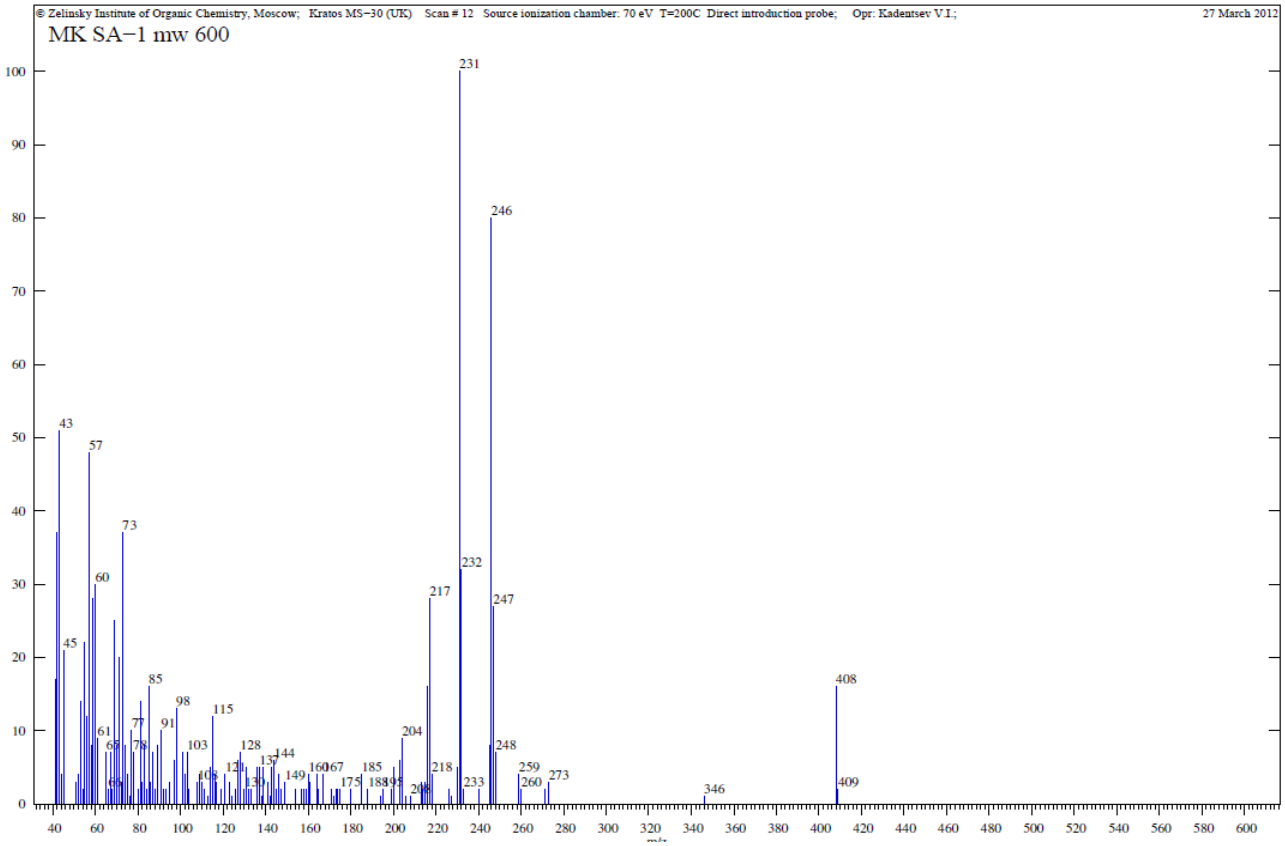


Рисунок 4.5 - Масс-спектр 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона

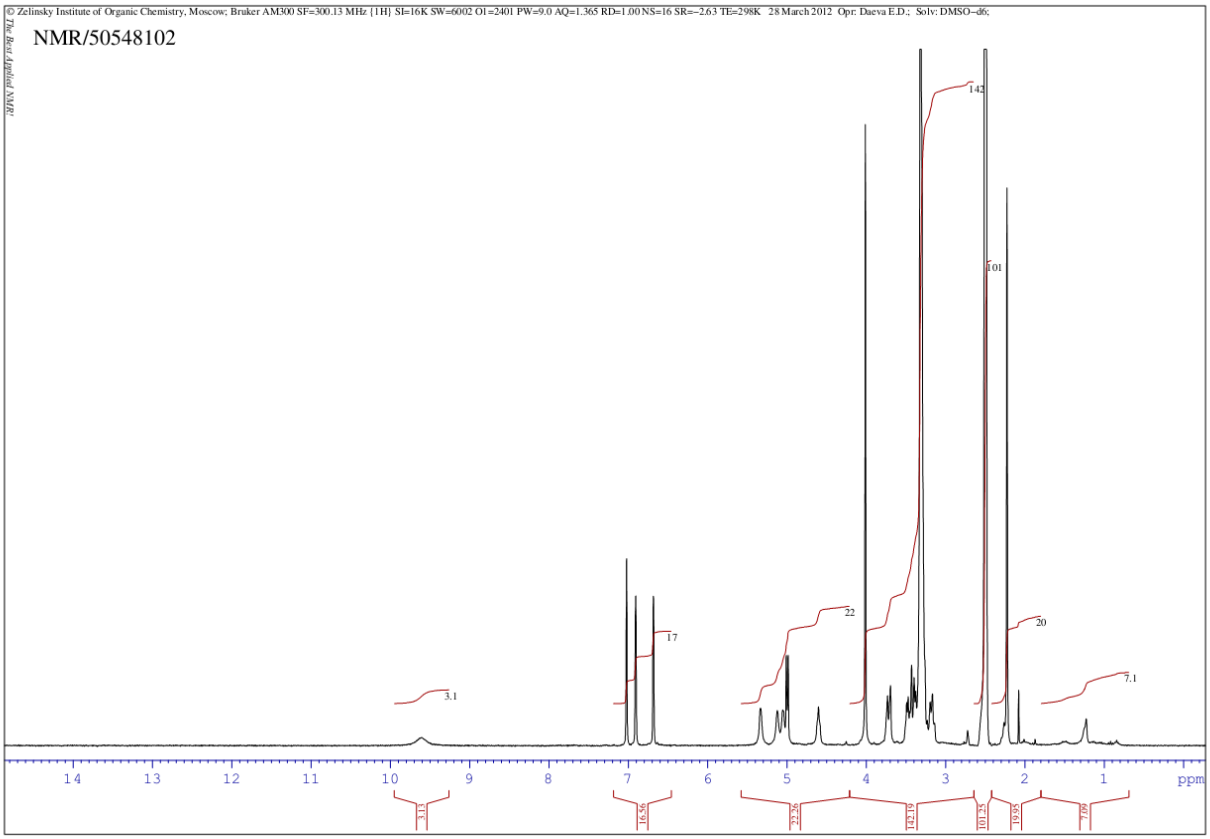


Рисунок 4.6 - ^{1}H-ЯМР спектр 8-O-β-D-глюкопиранозид торахризона

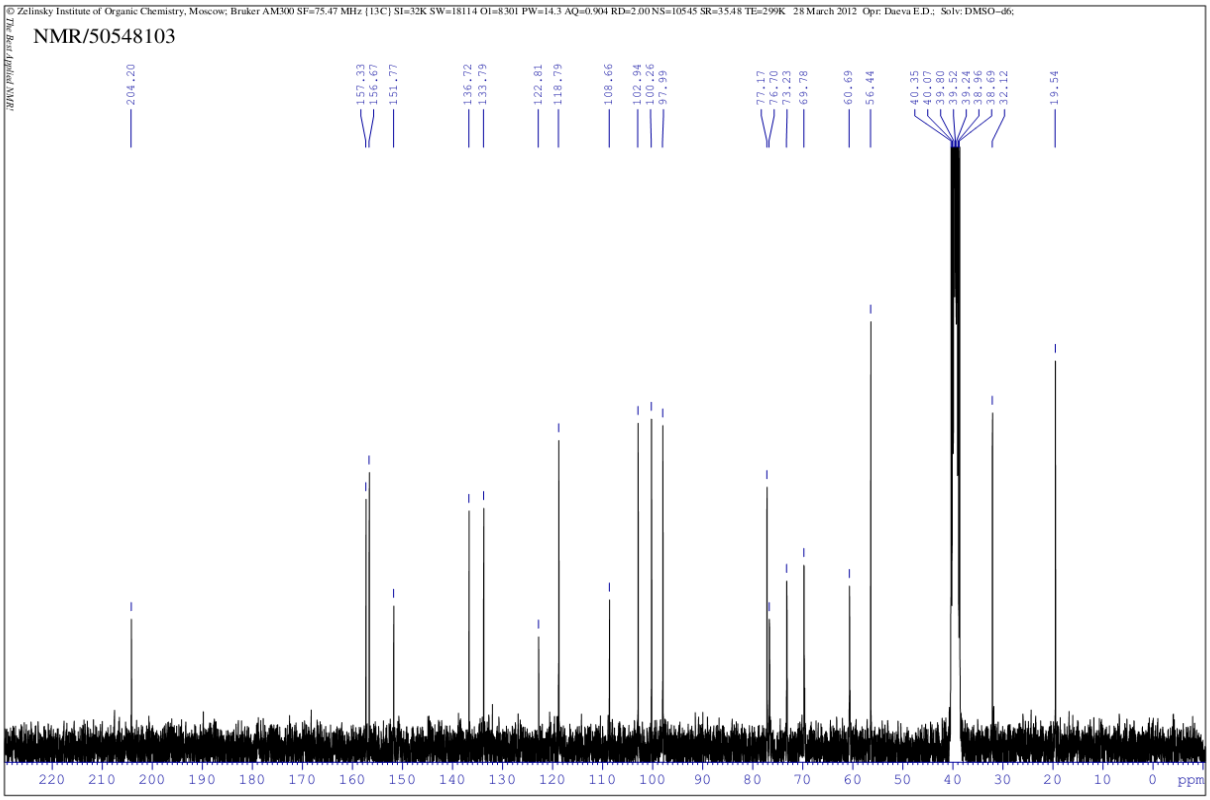


Рисунок 4.7 - ^{13}C-ЯМР спектр 8-O-β-D-глюкопиранозид торахризона

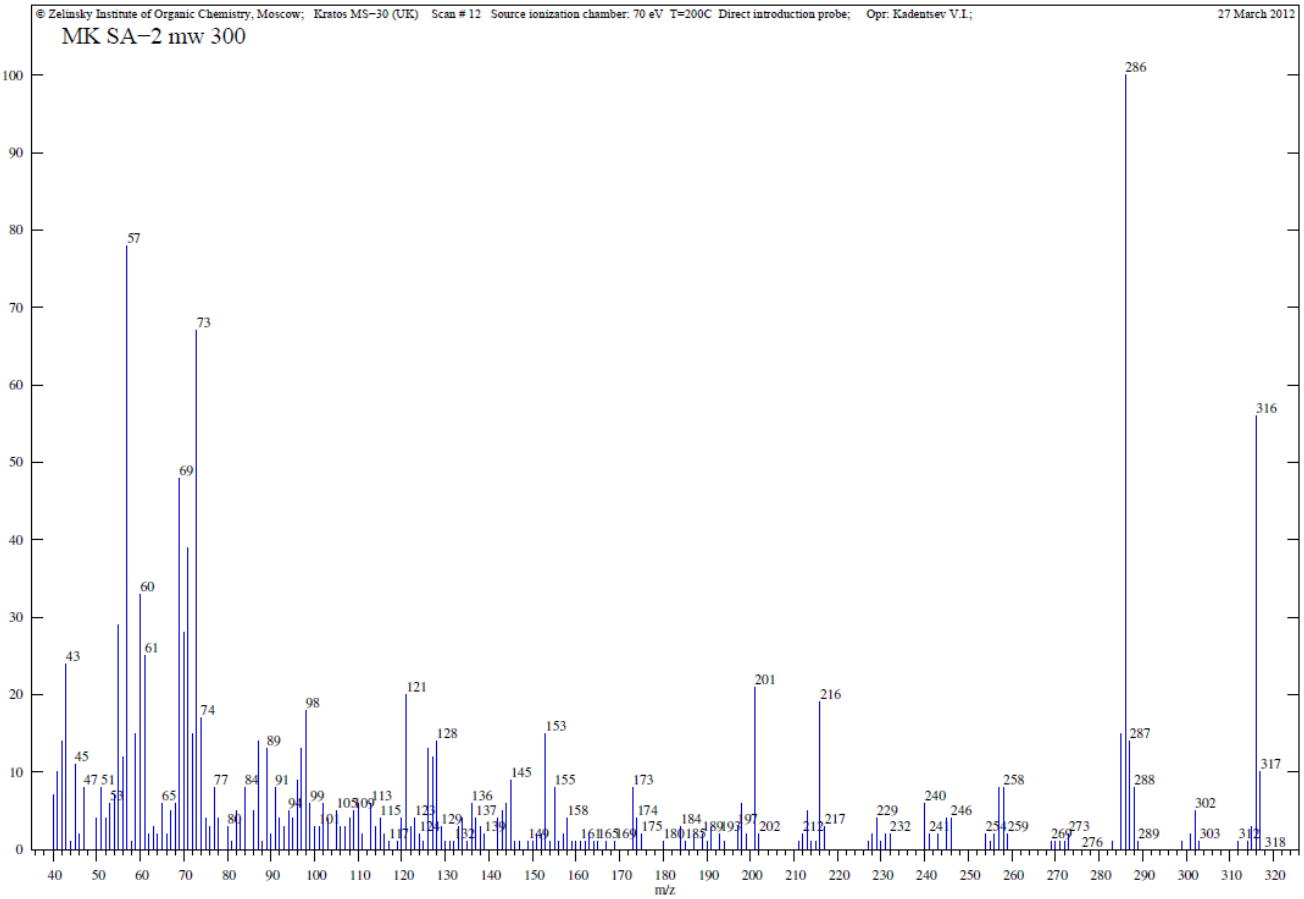


Рисунок 4.8 - Масс-спектр кемпферола-3-О-гентиобиозида

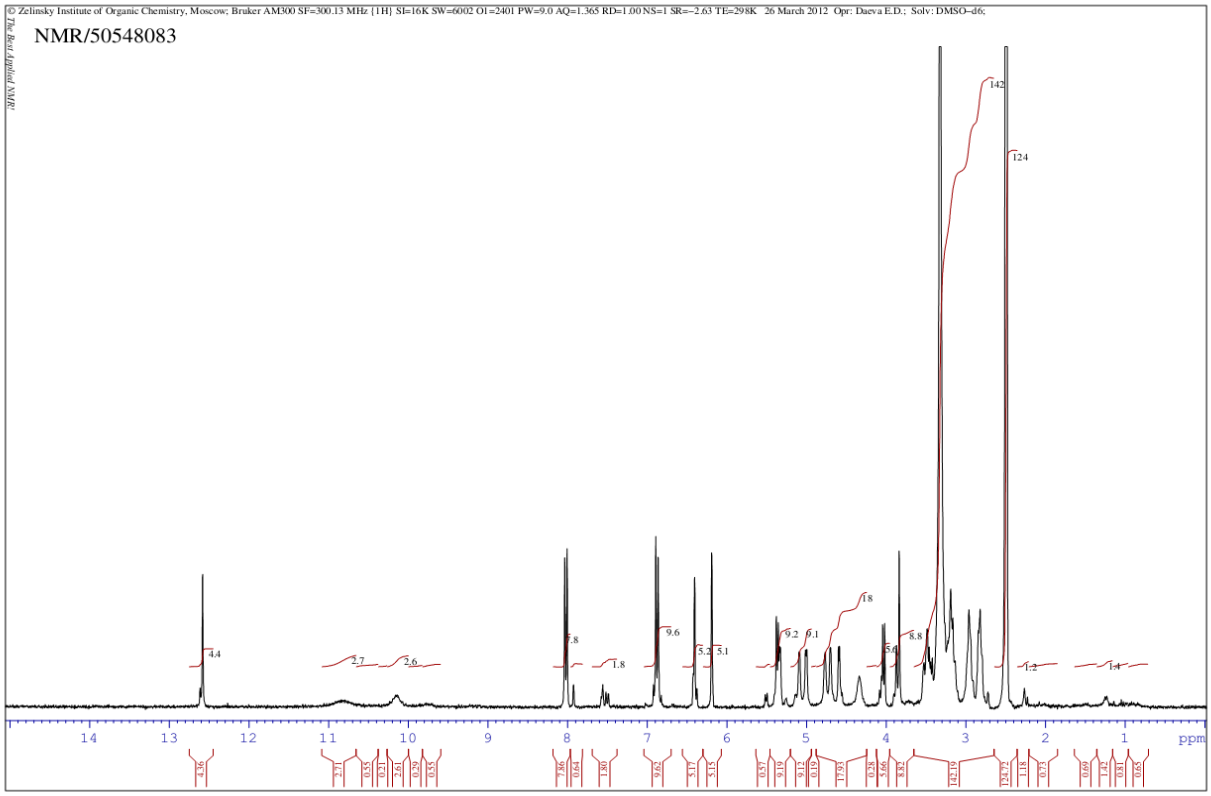
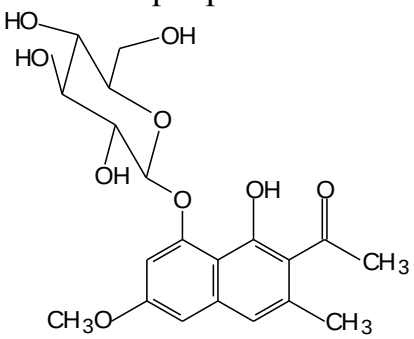
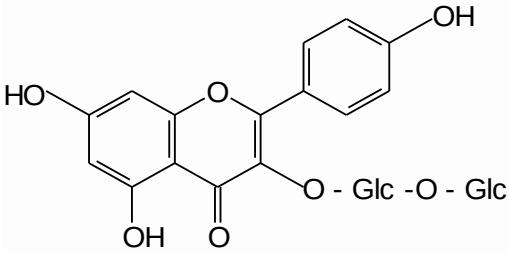
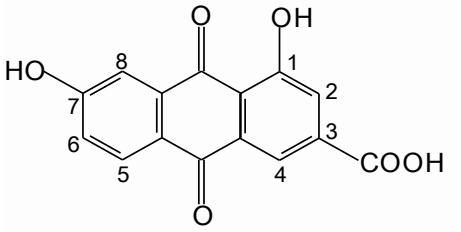
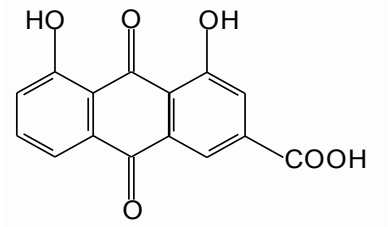
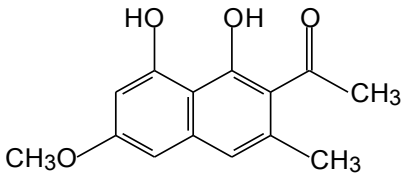
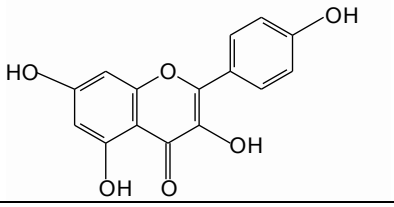


Рисунок 4.9 - ^{1}Н-ЯМР спектр кемпферола-3-О-гентиобиозида

4.1.2. Физико-химическая характеристика выделенных соединений и их производных из листьев сенны александрийской

Таблица 4.1 - Физико-химические константы выделенных соединений

№	Название, химическая формула	Состав	M^+	Т.пл. °С	λ_{max} (EtOH), нм
1.	8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона 	$C_{20}H_{24}O_9$	M^+ 408 M^+ аглико на 246	Аморф-ное вещество	241, 265пл, 332пл, 344
2	Кемпферол-3-О-гентиобиозид 	$C_{27}H_{30}O_{16}$	286 (M^+ аглико на)	174-177	269, 350
3	1,7-Дигидрокси-3-карбоксиантрахинон 	$C_{15}H_8O_6$	M^+ 284	305-308	234, 264, 433
4	Реин 	$C_{15}H_8O_6$	M^+ 284	318-320	238, 265, 440

5	Торахризон 	$C_{20}H_{24}O_9$	M^+ 246	Аморф-ное вещество	241, 265пл, 332пл, 344
6	Кемпферол 	$C_{15}H_{10}O_6$	M^+ 286	283-285	267, 359

8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (1,8-дигидрокси-6-метокси-2-ацетил-3-метилнафталин) (**1**). Аморфное вещество светло-желтого цвета состава $C_{20}H_{24}O_9$. Масс-спектр (70 eV, 200 °С, m/z, %): M^+ 408 (18%), M^+ агликона 246 (82 %), M^+ агликона $–CH_3$ 231 (100 %), 217 (28 %), λ_{max} EtOH: 241, 265пл, 332пл, 344 нм. Спектр ЯМР ^{1}H (300 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д., J/Гц): 2.25 (3H, с, ароматическая CH_3 при С-3), 2.53 (3H, с, $COCH_3$ при С-2), 4.01 (3H, с, ароматическая OCH_3-группа при С-6), 3.1-4.5 (6H глюкопиранозы), 5.02 (1H, д, 7 Гц, H-1^1 глюкопиранозы), 6.92 (1H, д, 2 Гц, H-7), 7.05 (1H, с, H-4), 6.70 (1H, д, 2 Гц, H-5), 9.58 (1H, с, OH-группа при С-1).

Спектр ^{13}С-ЯМР (75.47 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д.): 204,20 (CO), 157,33 (С-6), 156,67 (С-8). 151,77 (С-1), 136,72 (С-2), 133,79 (С-3), 122,81 (С-5), 118,79 (С-7), 108,66 (С-4), 102,96 (С-1^1 глюкозы), 97,99, 77,17, 76,70, 73,23, 69,78 (пять углеродных атомов глюкозы), 55,44 (OCH_3), 32,12 (CH_3 при CO) и 19,54 (CH_3 при С-3).

Кемпферол-3-О-гентиобиозид (3-О-гентиобиозид 3,5,7,4^1-тетрагидроксифлавона) (**2**). Светло-желтое кристаллическое вещество состава $C_{27}H_{30}O_{16}$ с т.пл. 174-177 °С (водный спирт). Масс-спектр (70 eV, 200 °С, m/z, %): 286 (M^+ агликона, 100 %), 153 (15), 121 (22), λ_{max} EtOH: 269, 350 нм; + NaOAc 274, 368 нм; + NaOAc + H_3BO_3 272, 355 нм; +$A1C1_3$ и +$A1C1_3$ + HCl 275, 305, 395 нм. ^{1}H-ЯМР-спектр (300 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.58 (1H, с, 5-OH), 8.03 (2H, д,

9 Гц, H-2^1,6^1), 6.87 (2H, д, 9 Гц, H-3^1,5^1), 6.42 (1H, д, 2.5 Гц, H-8), 6.20 (1H, д, 2.5 Гц, H-6), 5.35 (1H, д, 7 Гц, H-1^{11} глюкозы), 4.03 (1H, д, 7 Гц, H-1^{111} глюкозы), 3.10-5.2 (м, 12H глюкозы).

1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (неореин) (**3**). Кристаллы оранжевого цвета состава $C_{15}H_8O_6$, масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z, %): M^+ 284 (100 %), 256 (7), 254 (26), 239 (32), т.пл. 305-308 °C (водный спирт), λ_{max} EtOH 234, 264, 433 нм. ^{1}H-ЯМР спектр (300 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д., J/Гц): 11.91 (1H, с, ОН-группа при С-1), 8.16 (1H, уш. с, H-2), 7.85 (1H, д, 9 Гц, H-6), 7.80 (1H, уш. с, H-4), 7.78 (1H, д, 1 Гц, H-8), 7.42 (1H, д, 9 Гц, H-5). Спектр ^{13}C-ЯМР (75.47 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д.): 191.35 (3-COOH), 183.24 (C-9), 181.05 (C-10), 165.36 (C-3, C-7), 160.99 (C-1), 137.54 (C-6), 133.83 (C-10a), 133.27 (C-4a), 124.51 (C-5), 124.03 (C-2, C-8), 119.39 (C-4), 118.79 (C-8a), 116.22 (C-9a).

Кемпферол (3,5,7,4^1-тетрагидроксифлавон) (**6**). Светло-желтое кристаллическое вещество состава $C_{15}H_{10}O_6$ с т.пл. 283-285 °C (водный спирт), масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z, %): 286 (M^+, 100 %), 153 (14), 152 (41), 121 (9). λ_{max} EtOH 267, 359 нм; + NaOAc 274, 368 нм; + NaOAc + H_3BO_3 272, 355 нм; +$A1C1_3$ и +$A1C1_3$ + HCl 275, 305, 395 нм. ^{1}H-ЯМР-спектр (300 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12,52 (с, 1H, 5-OH), 8,06 (д, 9 Гц, 2H, H-2^1,6^1), 6,91 (д, 9 Гц, 2H, H-3^1,5^1), 6,53 (д, 2,5 Гц, H-8), 6,23 (д, 2,5 Гц, H-6).

Таким образом, в результате изучения компонентного состава листьев кассии остролистной выделены и охарактеризованы с использованием ^{1}H-ЯМР-, ^{13}C-ЯМР-, УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии известные для исследуемого растения 8-O-β-D-глюкопиранозид торахризона (1) и кемпферол-3-O-гентиобиозид (2), а также антраценпроизводное, названное нами неореином (3), который является новым природным соединением и имеет строение 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинона.

4.2. Исследование химического состава плодов сенны александрийской

4.2.1. Выделение и идентификация биологически активных веществ из плодов сенны александрийской

Объектом исследования служил промышленный образец плодов сенны остролистной, заготовленных в Индии. Препаративное выделение веществ осуществляли из плодов кассии остролистной с использованием колоночной хроматографии [33]. Воздушно-сухое сырье (100 г) подвергали исчерпывающему экстрагированию 70 % этиловым спиртом, сочетая при этом способ мацерации (24 ч) с последующей экстракцией при температуре 85-90 ^{o}C. Водно-спиртовые экстракты упаривали под вакуумом до густого остатка (около 30 мл). Сгущенный экстракт высушивали на силикагеле L 40/100 и полученный порошок (экстракт + силикагель) наносили на слой силикагеля, сформированный в хлороформе. Хроматографическую колонку элюировали хлороформом и смесью хлороформ-этиловый спирт в различных соотношениях (99:1; 97:2; 97:3; 95:5; 93:7; 90:10; 85:15; 80:20; 70:30, 60:40, 50:50). Контроль за разделением веществ осуществляли с помощью ТСХ-анализа на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» в системах хлороформ-этанол (9:1), хлороформ-метанол-вода (26:14:3), а также *н*-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4:1:2). Фракции, содержащие вещества **1-3,** с целью их выделения подвергали рехроматографированию на колонке с силикагелем L 40/100 с использованием смеси хлороформ-этиловый спирт в градиентном режиме. Окончательную очистку вещества **3** осуществляли рехроматографией на колонке с полиамидом «Woelm» (Германия), элюируя смесями воды и этилового спирта в различных соотношениях, а затем водным раствором гидрокарбоната натрия с последующим осаждением целевого соединения из элюата подкислением 10 % раствором хлороводородной кислоты до слабокислой среды (pH около 6,0).

Спектры ЯМР ^{1}H и ЯМР ^{13}C получали на приборе «Bruker AM 300», масс-спектры снимали на масс-спектрометре «Kratos MS-30», регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena).

В результате исследования компонентного состава плодов кассии остролистной выделены два доминирующих вещества - изорамнетин-3-О-гентиобиозид (**7**) (флавоноид) и 1,8-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (реин) (**9**) (антрахинон) [196, 199, 262]. Кемпферол-3-О-гентиобиозид (**8**) (флавоноид) [306], являющийся доминирующим флавоноидом листьев сенны остролистной, а также сеннозид В (антрагликозид) выделены в минорных количествах [283, 285, 304].

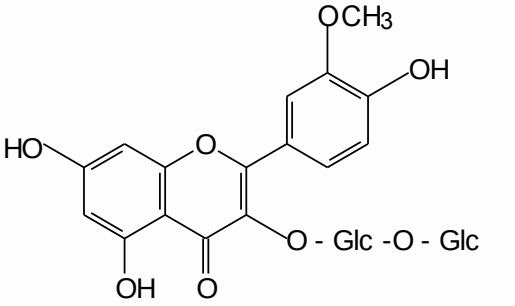
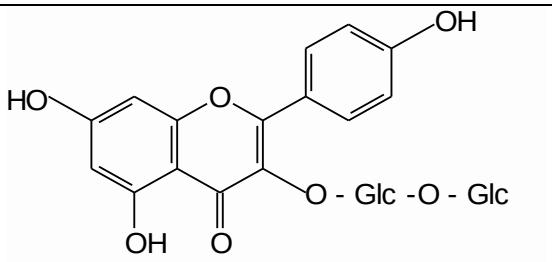
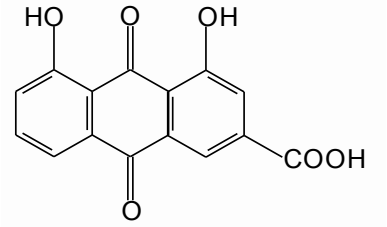
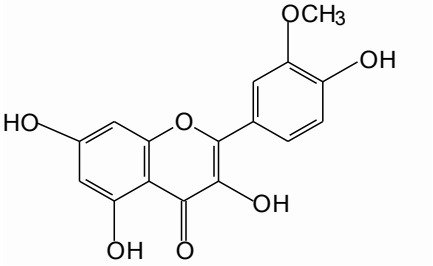
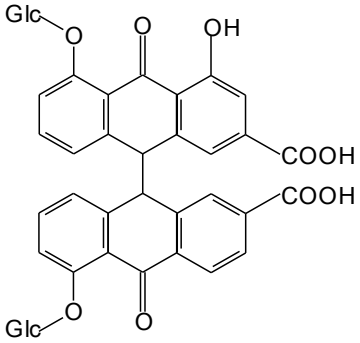
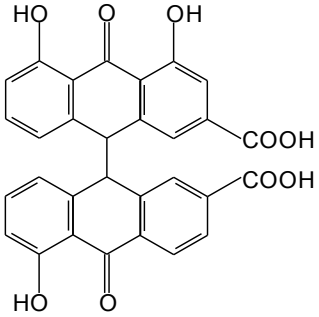
<table>
<tr><td>  </td><td>  </td></tr>
<tr><td>Изорамнетин-3-О-гентиобиозид (7)</td><td>Кемпферол-3-О-гентиобиозид (8)</td></tr>
<tr><td>  </td><td>  </td></tr>
<tr><td>1,8-Дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (реин) (9)</td><td>Изорамнетин (10)</td></tr>
<tr><td>  </td><td>  </td></tr>
<tr><td>Сеннозид В (11)</td><td>Сеннидин В (диреин) (12)</td></tr>
</table>

Рисунок 4.10 – Основные компоненты плодов кассии остролистной

С использованием ТСХ обнаружено, что именно соединения **7** и **9** являются доминирующими компонентами плодов сенны. На наш взгляд, обнаружение методом ТСХ соединений **7 (**изорамнетин-3-О-гентиобиозид**)** и **9** (реин),

диагностически значимых для плодов сенны, является перспективным подходом в плане идентификации сырья и препаратов данного растения. Это тем более важно, что в силу невысокого содержания сеннозида А и В как в листьях, так и плодах кассии [278], определение данных соединений методом ТСХ весьма проблематично. При этом обращает на себя внимание тот факт, что, по нашим данным, доминирующим антраценпроизводным соединением листьев кассии является не реин (**9**), а близкий к нему по хроматографической подвижности, физико-химическим и спектральным характеристикам антрахинон - 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон.

В ^{1}Н-ЯМР-спектре реина (**9**) характерным является двухпротонный синглетный сигнал при 11,91 м.д., свидетельствующий о наличии свободных 1-ОН-группы и 8-ОН-группы (рис. 4.12). Сигналы ароматических протонов проявляются следующим образом: Структура соединения 9 подтверждается также и данными ^{13}С-ЯМР-спектра, в котором обнаруживаются сигнал С-1 при 161.05 м.д. и сигнал С-8 при 161.39 124.03 м.д. Сигнал карбоксильной группы присутствует в спектре при 191,34 м.д. Следовательно, соединение **9** является реином (рис. 4.13) [305, 309].

К доминирующим фенольным компонентам относится также и изорамнетин-3-О-гентиобиозид (**8**), который, на наш взгляд, как и реин (**9**) имеют диагностическое значение в плане идентификации сырья кассии.

В условиях кислотного гидролиза изорамнетин-3-О-гентиобиозид (**7**) расщепляется с образованием изорамнетина (**10**), в масс-спектре которого обнаружен молекулярный ион с m/z 316 (рис. 4.11). При этом в гидролизате изорамнетин-3-О-гентиобиозида (**7**) обнаружен моносахарид – глюкоза. Наличие биозы гентиобиозы, содержащей две молекулы глюкозы, подтверждается данными ^{1}Н-ЯМР-спектра соединения 7, в котором обнаружены сигналы аномерных протонов С-1^{11} и С-1^{111} при 5.30 м.д. (1Н, д, 7 Гц, Н-1^{11} глюкозы), 4.02 м.д. (1Н, д, 7 Гц, Н-1^{111} глюкозы) (рис. 4.12). Присоединение биозы к 3-ОН-группе подтверждается данными УФ-спектров: наличие батохромного сдвига коротковолнового максимум поглощения в присутствии NaOAc (+5 нм) и батохромного сдвига длинноволнового максимум поглощения в присутствии

+$AlCl_3$ (+43 нм). Идентификация кемпферол-3-О-гентиобиозида (**8**) осуществлялась аналогично данному веществу, выделенному из листьев кассии остролистной.

Сеннозид В (**11**), в основе которого лежит агликон сеннидин (**12**), выделен из плодов кассии в минорных количествах и идентифицирован на основании данных УФ-спектров [309].

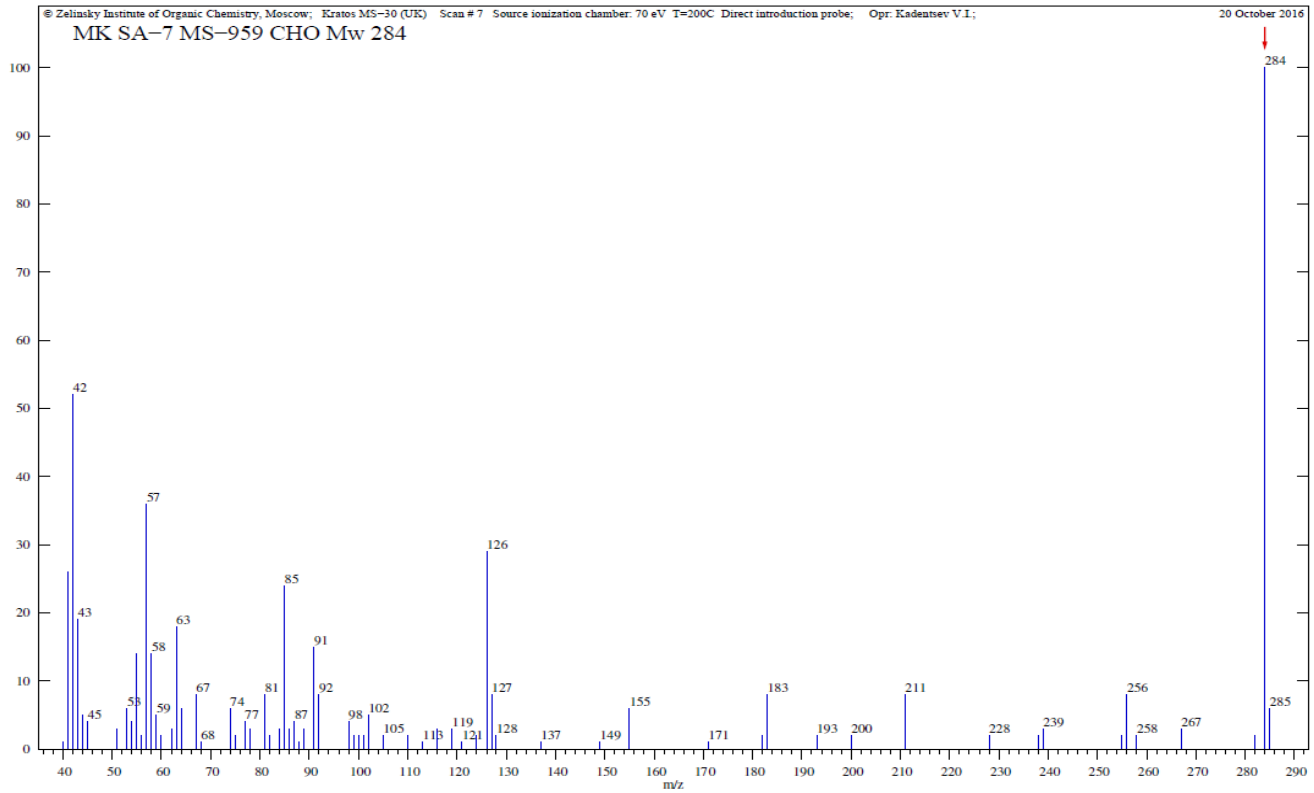


Рисунок 4.11 - Масс-спектр 1,8-дигидрокси-3-карбоксиантрахинона (реина)

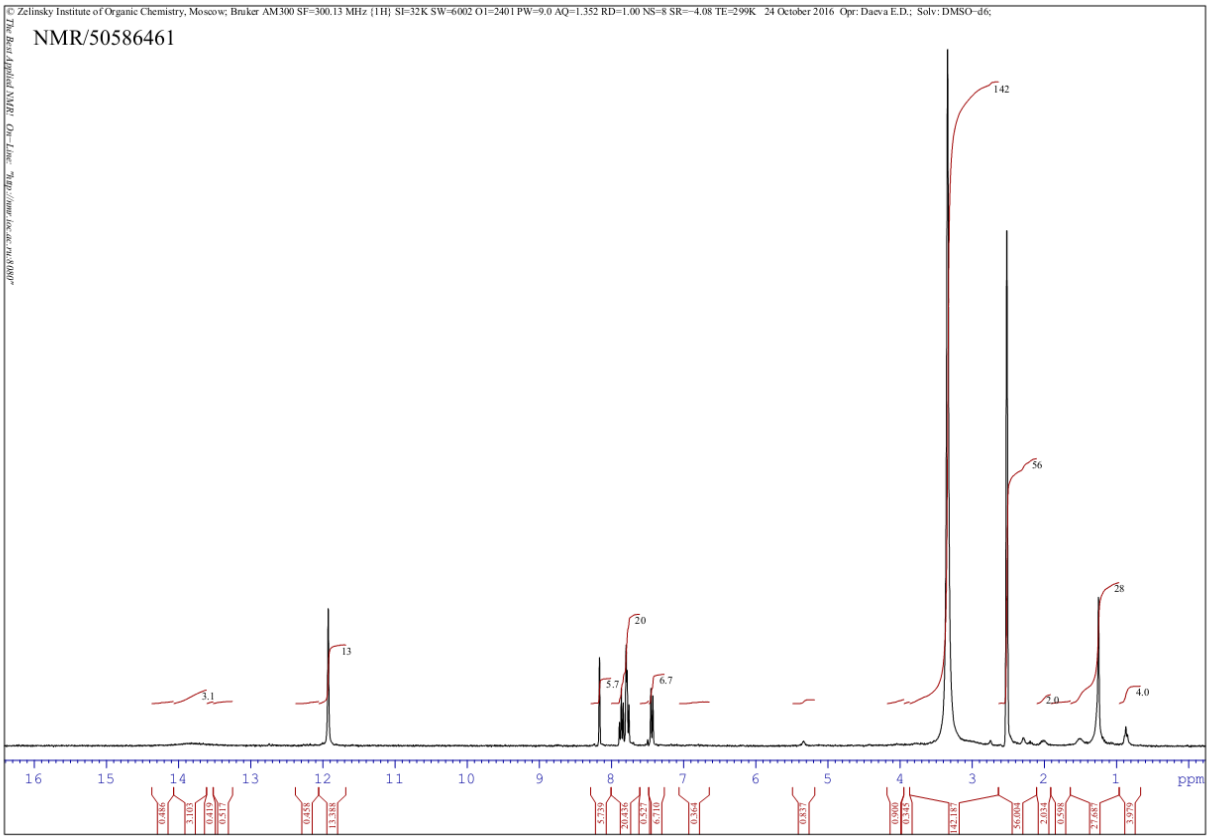


Рисунок 4.12 - ^{1}H-ЯМР спектр 1,8-Дигидрокси-3-карбоксиантрахинона (реина)

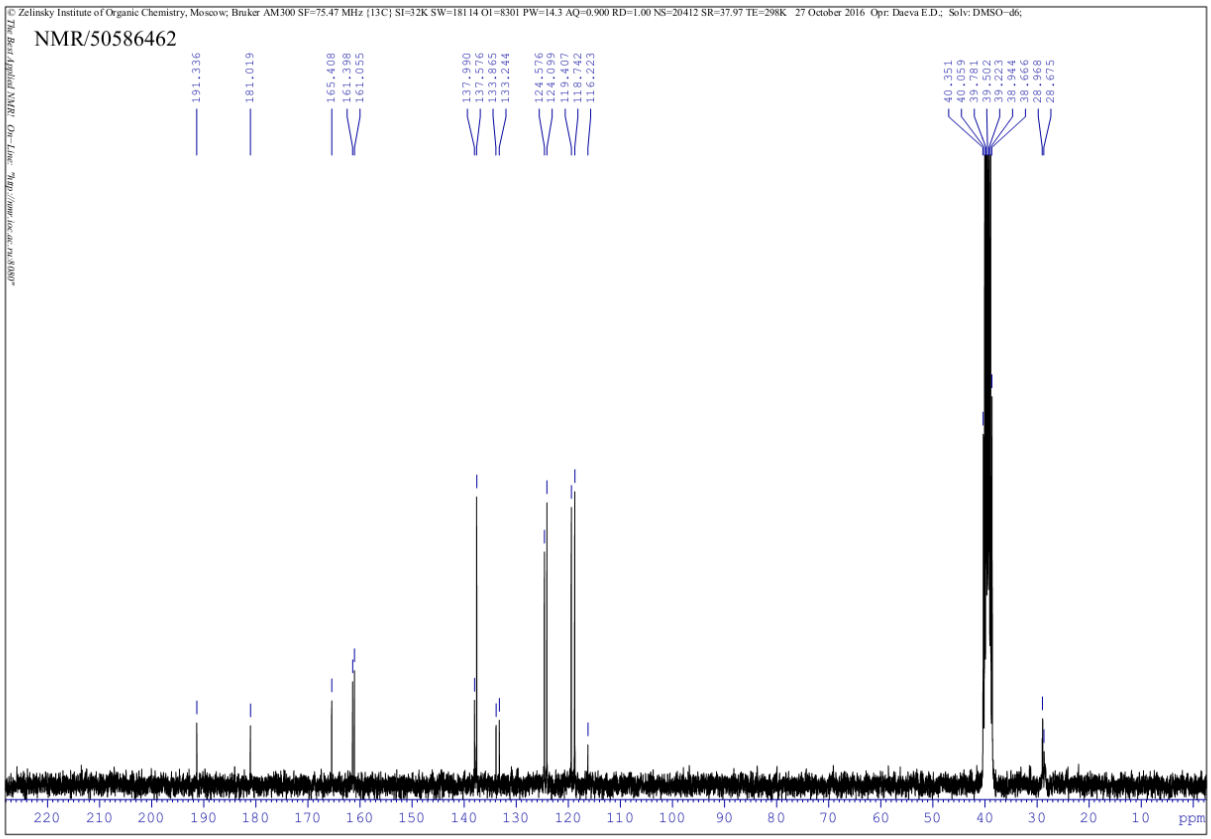
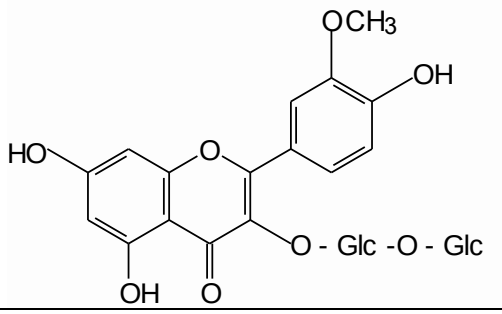
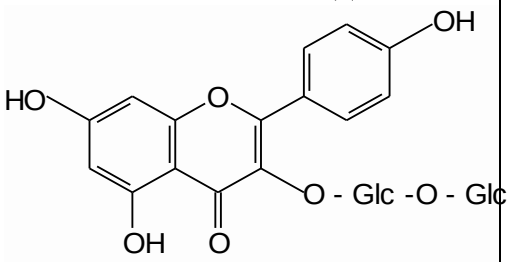
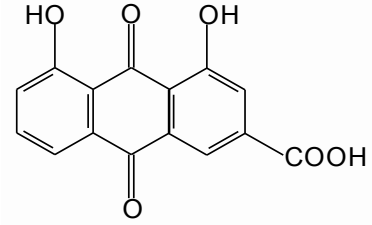
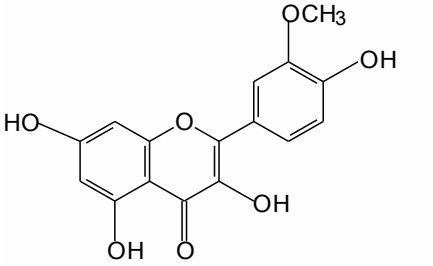
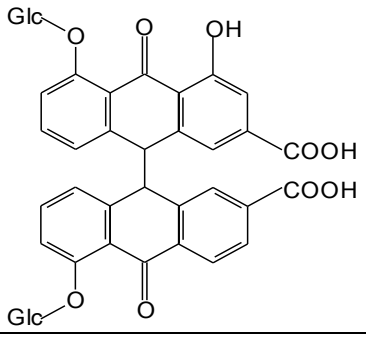
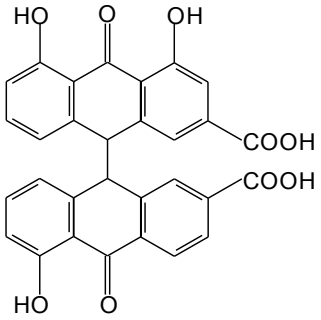


Рисунок 4.13 - ^{13}C-ЯМР спектр 1,8-Дигидрокси-3-карбоксиантрахинона (реина)

4.2.2. Физико-химическая характеристика выделенных соединений и их производных из плодов сенны александрийской

Таблица 4.2 - Физико-химические константы выделенных соединений

№	Название, химическая формула	Состав	M^+	Т.пл. °С	λ_{max} (EtOH), нм
7.	Изорамнетин-3-О-гентиобиозид 	$C_{28}H_{32}O_{16}$	316 (M^+ аглико на)	174-177	266, 275(пл), 368
8.	Кемпферол-3-О-гентиобиозид 	$C_{27}H_{30}O_{16}$	286 (M^+ аглико на)	174-177	269, 350
9.	1,8-Дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (реин) 	$C_{15}H_8O_6$	284 (M^+ аглико на)	318-320	238, 265, 440
10.	Изорамнетин 	$C_{16}H_{12}O_7$	M^+ 316	295-297	256, 269 пл, 370

11.	Сеннозид В 	$C_{42}H_{38}O_{20}$	M^+ 862 [309]	180-185	210, 270, 307, 356
12.	Сеннидин В (диреин) 	$C_{30}H_{18}O_{10}$ [309]	M^+ 538 [309]	178-186 [309]	210, 240, 270, 306, 355 [309]

Изорамнетин-3-О-гентиобиозид (3-О-гентиобиозид 3,5,7,4^1-тетрагидрокси-3^1-метоксифлавона) (**7**). Светло-желтое кристаллическое вещество состава $C_{28}H_{32}O_{16}$ с т.пл. 174-177 ^{o}C (водный спирт). Масс-спектр (70 eV, 200 ^{o}C, m/z, %): 316 (M^+ агликона, 100), λ_{max} EtOH: 266, 275(пл), 368 нм; + NaOAc 273, 370 нм; + NaOAc + H_3BO_3 274, 370 нм; +A1C1$_3$ и +A1C1$_3$ + HCl 275, 305, 409 нм. ^{1}H-ЯМР-спектр (300 МГц, ДМСО-d$_6$, δ, м.д., J/Гц): 12.59 (1H, с, 5-ОН), 7,68 (дд, 2 и 9 Гц, Н-6^1), 7.57 (д, 2 Гц, Н-2^1), 6,82 (д, 9 Гц, Н-5^1), 6,36 (д, 2 Гц, Н-6), 6,67 (д, 2 Гц, Н-8), 5.34 (1H, д, 7 Гц, Н-1^{11} глюкозы), 3.86 (с, 3Н, CH_3O), 4.05 (1H, д, 7 Гц, Н-1^{111} глюкозы), 3.10-5.2 (м, 12Н глюкозы).

Кемпферол-3-О-гентиобиозид (3-О-гентиобиозид 3,5,7,4^1-тетрагидроксифлавона) (**8**). Светло-желтое кристаллическое вещество состава $C_{27}H_{30}O_{16}$ с т.пл. 174-177 ^{o}C (водный спирт). Масс-спектр (70 eV, 200 ^{o}C, m/z, %): 286 (M^+ агликона, 100 %), 153 (15), 121 (22), λ_{max} EtOH: 269, 350 нм; + NaOAc 274, 368 нм; + NaOAc + H_3BO_3 272, 355 нм; +A1C1$_3$ и +A1C1$_3$ + HCl 275, 305, 395 нм. ^{1}H-ЯМР-спектр (300 МГц, ДМСО-d$_6$, δ, м.д., J/Гц): 12.58 (1H, с, 5-ОН), 8.03 (2Н, д, 9 Гц, Н-2^1,6^1), 6.87 (2Н, д, 9 Гц, Н-3^1,5^1), 6.42 (1H, д, 2.5 Гц, Н-8), 6.20 (1H, д, 2.5

Гц, H-6), 5.35 (1H, д, 7 Гц, H-1^{11} глюкозы), 4.03 (1H, д, 7 Гц, H-1^{111} глюкозы), 3.10-5.2 (м, 12H глюкозы).

1,8-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (реин) (**9**). Кристаллы оранжевого цвета состава $C_{15}H_8O_6$, масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z, %): M^+ 284 (100 %), 267 (4), 256 (9), 239 (4), 211 (10), 183 (10), 155 (8), 126 (30); т.пл. 318-320 °C (водный спирт), λ_{max} EtOH 238, 265, 440 нм. ^{1}H-ЯМР спектр (300 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д., J/Гц): 11.91 (2H, с, ОН-группа при С-1 и С-8), 8.17 (1H, уш. с, H-2), 7.83 (1H, т, 8 Гц, H-6), 7.79 (1H, уш. с, H-4), 7.75 (1H, д, 8 Гц, H-7), 7.43 (1H, д, 8 Гц, H-5). Спектр ^{13}C-ЯМР (75.47 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д.): 191.34 (3-COOH), 181.02 (C-9), 181.05 (C-10), 165.40 (C-3), 161.39 (C-8), 161.05 (C-1), 137.90 (C-6), 133.86 (C-10a), 133.24 (C-4a), 124.57 (C-5), 124.09 (C-2), 119.39 (C-4), 118.74 (C-4a), 116.22 (C-8a), 116.22 (C-9a).

Изорамнетин (3,5,7,4^1-тетрагидрокси-3^1-метоксифлавон) (**10**). Кристаллы желтого цвета состава $C_{16}H_{12}O_7$, т. пл. 295-297 ºС (водный спирт). λ_{max} EtOH 256, 269 пл, 370 нм; +NaOAc 272, 390; +$AlCl_3$ 268, 276 пл, 360, 430. ^{1}H-ЯМР-спектр (300 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12,58 (1H, с, 5-ОН группы), 3.86 (с, 3H, CH_3O), 6,36 (д, J=2, H-6), 6,67 (д, J=2, H-8), 7.57 (д, J=2, H-2^1), 7,68 (дд, J=2 и J=9, H-6^1), 6,82 (д, J=9, H-5^1). Масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z, %): M^+ агликона 316 (100).

Сеннозид В (11). Кристаллы светло-желтого цвета состава $C_{42}H_{38}O_{20}$, т. пл. 180-185 ºС (водный спирт). λ_{max} EtOH 210, 270, 307, 356 нм [309].

Таким образом, в результате изучения компонентного состава плодов кассии остролистной выделены и охарактеризованы с использованием ^{1}H-ЯМР-, ^{13}C-ЯМР-, УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии известные для исследуемого растения изорамнетин-3-О-гентиобиозид (1), кемпферол-3-О-гентиобиозид (2), реин (3) и сеннозид В (5). При этом показано, что доминирующими компонентами данного сырья данного растения являются изорамнетин-3-О-гентиобиозид (1) и реин (3). Этот вывод согласуется с результатами исследований зарубежных ученых, в соответствии с которыми доминирующими компоненты листьев кассии является реин, а также изорамнетин-3-О-гентиобиозид и кемпферол-3-О-гентиобиозид [275, 278, 305, 314].

4.3. Исследование химического состава корней марены красильной

4.3.1. Выделение и идентификация биологически активных веществ из корней марены красильной

Объектом исследования служил промышленный образец корней марены красильной, заготовленные в Краснодарском крае. Препаративное выделение веществ осуществляли из корней марены красильной с использованием колоночной хроматографии [33]. Воздушно-сухое сырье (100 г) подвергали исчерпывающему экстрагированию 70 % этиловым спиртом, сочетая при этом способ мацерации (24 ч) с последующей экстракцией при температуре 85-90 ^{o}C. Водно-спиртовые экстракты упаривали под вакуумом до густого остатка (около 30 мл). Сгущенный экстракт высушивали на силикагеле L 40/100 и полученный порошок (экстракт + силикагель) наносили на слой силикагеля, сформированный в хлороформе. Хроматографическую колонку элюировали хлороформом и смесью хлороформ-этиловый спирт в различных соотношениях (99:1; 97:2; 97:3; 95:5; 93:7; 90:10; 85:15; 80:20; 70:30, 60:40, 50:50). Контроль за разделением веществ осуществляли с помощью ТСХ-анализа на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» в системах хлороформ-этанол (9:1), хлороформ-метанол-вода (26:14:3), а также *н*-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4:1:2). Фракции, содержащие вещество **13,** с целью его выделения подвергали рехроматографированию на колонке с силикагелем L 40/100 с использованием смеси хлороформ-этиловый спирт в градиентном режиме.

Спектры ЯМР ^{1}H и ЯМР ^{13}C получали на приборе «Bruker AM 300», масс-спектры снимали на масс-спектрометре «Kratos MS-30», регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena).

В результате исследования компонентного состава листьев кассии выделено доминирующее вещество - руберитриновая кислота (**13**) (антрахинон)[282].

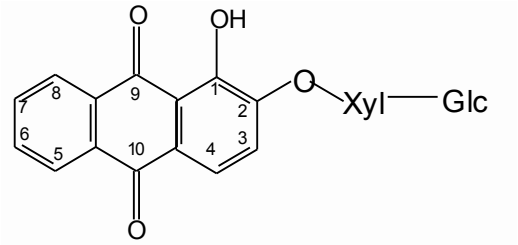
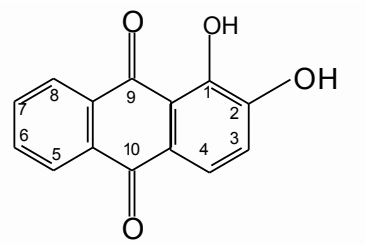
	
Руберитриновая кислота (**13**)	Ализарин (**14**)

Рисунок 4.14 – Основные компоненты корней марены красильной

С использованием ТСХ обнаружено, что соединение **13** является доминирующим компонентом корней марены красильной. На наш взгляд, обнаружение методом ТСХ соединения **13**, диагностически значимого для корней марены красильной, является перспективным подходом в плане идентификации сырья и препаратов данного растения.

В основе антрахинона **13** лежит ализарин, или 1,2-дигидроксиантрахинон (**14**). Этот вывод сделан на основании данных ^{1}Н-ЯМР-спектра соединения **13:** наличие при 13,00 м.д. одного уширенного синглетного сигнала, принадлежащего 1-ОН-группе, в сочетании с характером сигналов ароматических протонов при С-3, С-4, С-5, С-6, С-7 и С-8, которые соответствуют литературным данным (рис. 4.16) [309].

Строение руберитриновой кислоты (**13**) подтверждается также данными ^{13}С-ЯМР-спектра, который согласуется с литературными данными (рис. 4.15-4.17) [309].

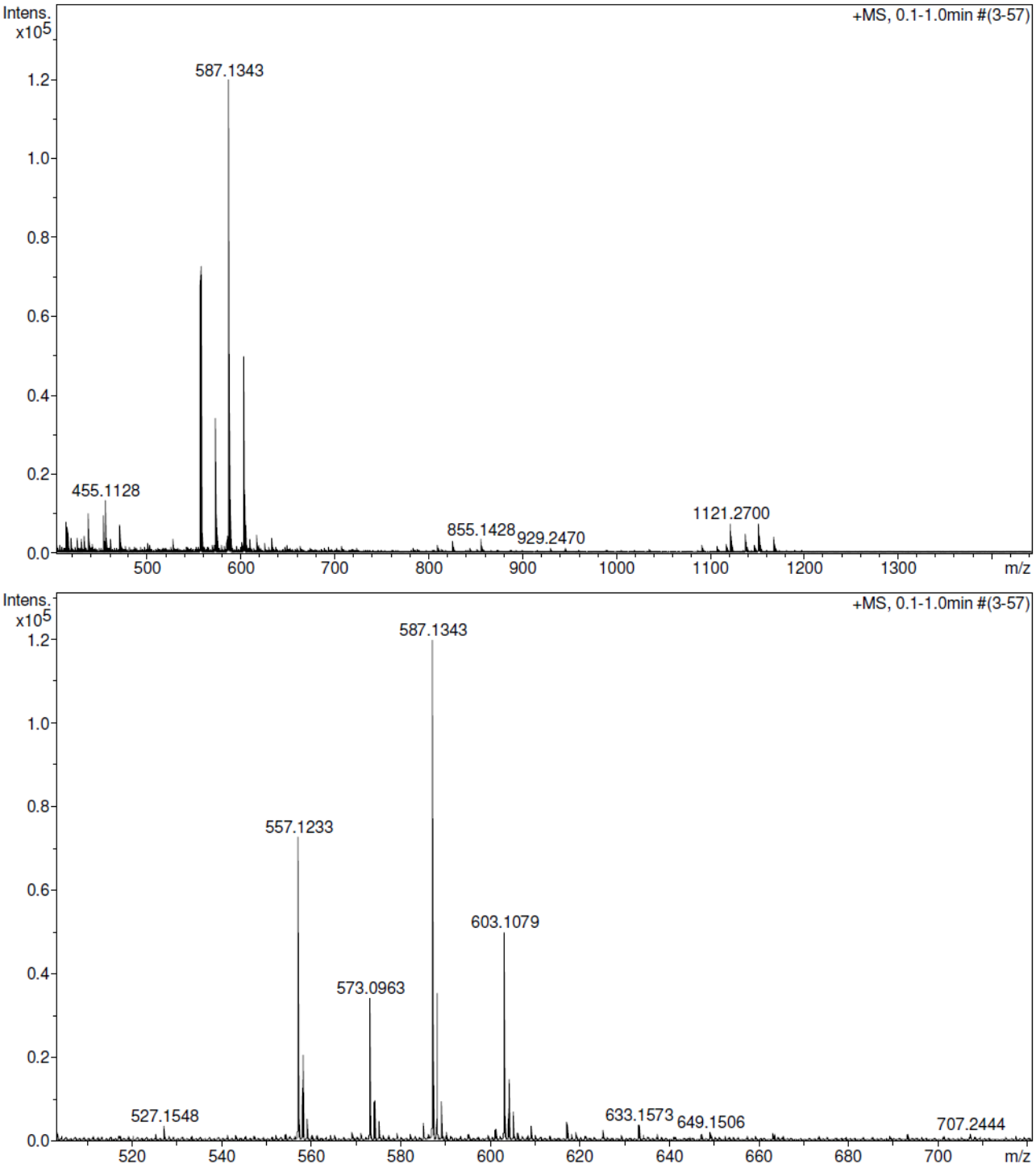


Рисунок 4.15 - Масс-спектр руберитриновой кислоты

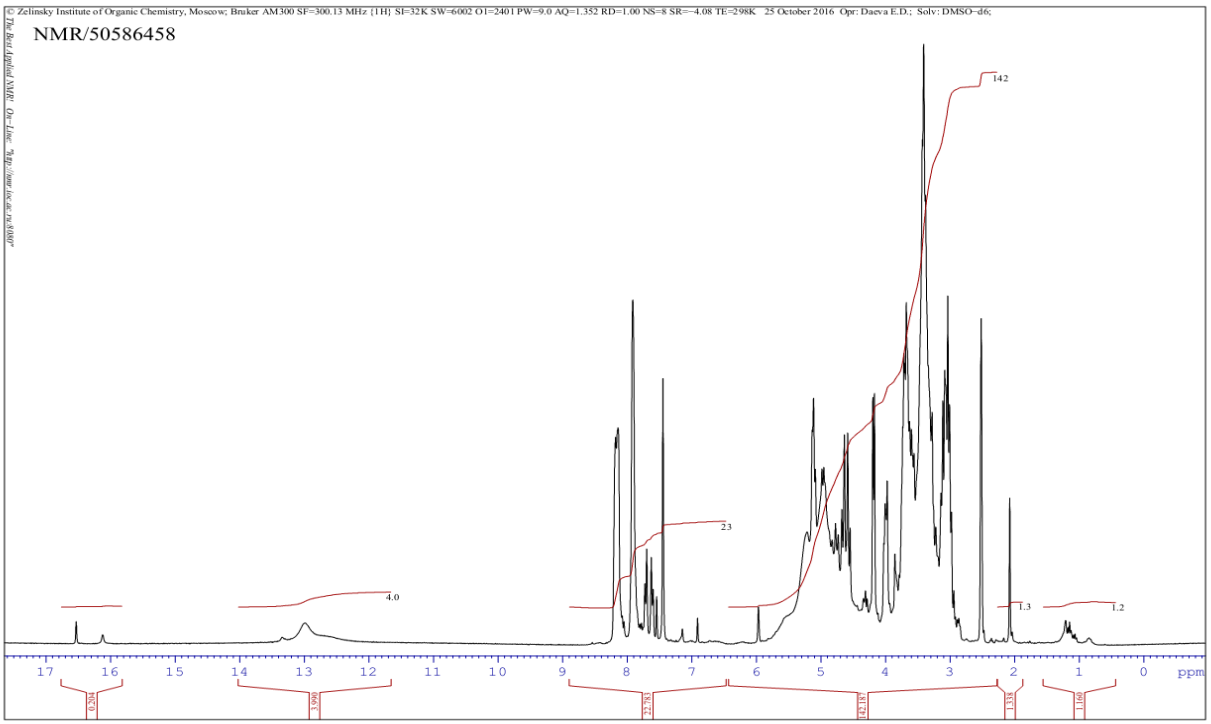


Рисунок 4.16 - ^{1}H-ЯМР спектр руберитриновой кислоты в ДМСО-d_6.

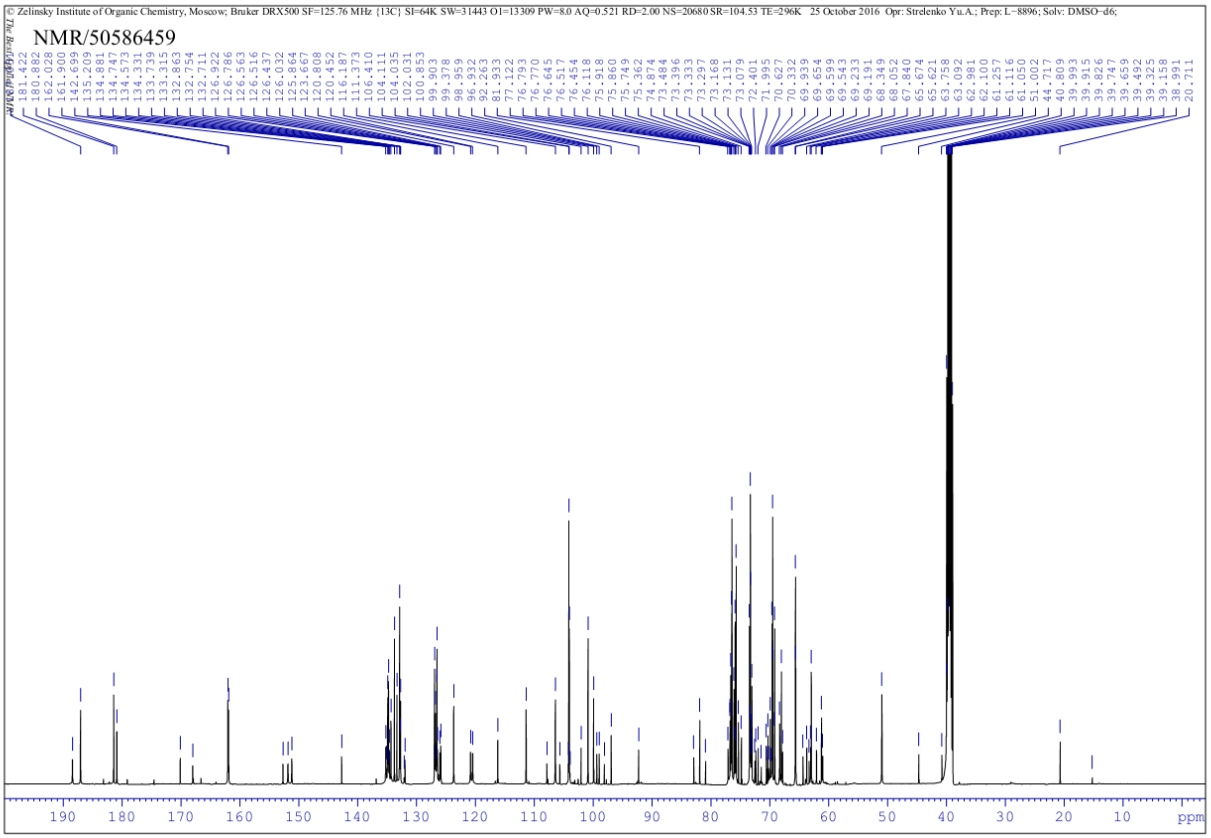
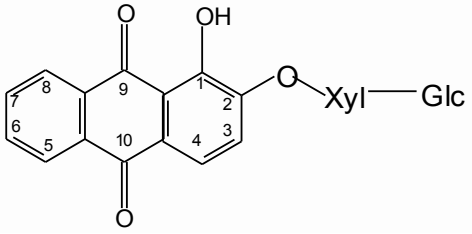


Рисунок 4.17 - ^{13}C-ЯМР спектр руберитриновой кислоты.

4.3.2. Физико-химическая характеристика выделенных соединений и их производных из корней марены красильной

Таблица 4.3 - Физико-химические константы выделенных соединений

№	Название, химическая формула	Состав	M^+	Т.пл. °С	λ_{max} (EtOH), нм
13.	Руберитриновая кислота 	$C_{25}H_{26}O_{13}$	557 [M + Na]$^+$	255-257	260, 331, 416

Руберитриновая кислота (**13**). Кристаллы оранжевового цвета состава $C_{25}H_{26}O_{13}$, Масс-спектр (ESI-MS, 180 °С, m/z): 557 [M + Na]$^+$, т.пл. 255-257 °С (водный спирт), λ_{max} EtOH 260, 331, 416 нм. ^{1}Н-ЯМР спектр (300 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д., J/Гц): 13.00 (1Н, с, ОН-группа при С-1), 8.20 и 8.15 м.д. (1Н, уш. с, Н-5 и Н-8), 7.75 (2Н, уш. с, Н-6 и Н-7), 7.80 (1Н, уш. с, Н-4), 7.65 (1Н, м, Н-4), 7.43 (1Н, с, Н-3), 5,05 (1Н, д, 6 Гц, Н-1^1 ксилозы), 4,90 (1Н, д, 7 Гц, Н-1^1 глюкозы), 3,1-4,5 (сигналы протонов глюкозы и ксилозы).

Спектр ^{13}С-ЯМР (75.47 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д.): 187.05 (С-10), 181.42 (С-9), 162.02 (С-2), 161.90 (С-1), 135,20 С-7), 134,88 (С-6), 133,86 (С-8а), 132,71 (С-10а), 126,92 (С-8), 126,78 (С-5), 123,66 (С-4а), 120,86 (С-4), 120,45 (С-10а), 116,18 (С-9а), 104,11 (С-1^1 ксилозы), 104,03 (С-1^{11} глюкозы), 65,62-102,03 (углеродные атомы ксилозы и глюкозы).

В результате исследования компонентного состава водно-спиртовых извлечений корней марены красильной подтверждено, что доминирующим компонентом сырья данного растения является антрахинон - руберитриновая кислота, что вызывает интерес как с точки качественного, так и с точки количественного анализа данного лекарственного растительного сырья.

4.4. Исследование химического состава коры крушины ломкой

Исследование химического состава коры крушины ломкой проводилось с целью выделения основных антраценпроизводных, которые использованы для разработки фармакопейной статьи «Крушины ломкой кора» для Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания, в частности для разделов «Подлинность» и «Количественное определение» (глава 5), а также для создания новой лекарственной формы на основе коры крушины ломкой (глава 6).

4.4.1. Выделение и идентификация биологически активных веществ из коры крушины ломкой

Объектом настоящего исследования служили образцы коры крушины ломкой, заготовленные в Ботаническом саду Самарского государственного университета в апреле-мае 2009 года, а также промышленный образец сырья (ПКФ «Фитофарм» Краснодарского края). Кору крушины ломкой (200 г) подвергали исчерпывающему экстрагированию 70 % этиловым спиртом, сочетая при этом способ мацерации (24 ч) с последующей термической экстракцией при температуре 85-90°С. Водно-спиртовые экстракты упаривали под вакуумом до густого остатка (около 50 мл). Сгущенный экстракт высушивали на силикагеле L 40/100 и полученный порошок (экстракт+силикагель) наносили на слой силикагеля, сформированный в хлороформе. Хроматографическую колонку элюировали хлороформом и смесью хлороформ-этанол в различных соотношениях (97:3; 95:5; 93:7; 90:10; 85:15; 80:20; 70:30, 60:40, 50:50). Контроль за разделением веществ осуществляли с помощью ТСХ-анализа на пластинках «Silufol UV 254» и «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» в системах хлороформ-этанол (4:1), а также хлороформ-метанол-вода (26:14:3). Фракции, содержащие вещества **15** и **16**, были объединены, а выпавшие из них осадки отделены и затем перекристиллизованы из водного спирта.

Спектры ЯМР ^{1}Н выделенных веществ **15** и **16** получали на приборах «Bruker AM 300» (300 МГц), масс-спектры снимали на масс-спектрометре «Kratos MS-30»,

регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena) (рис. 4.19-4.21).

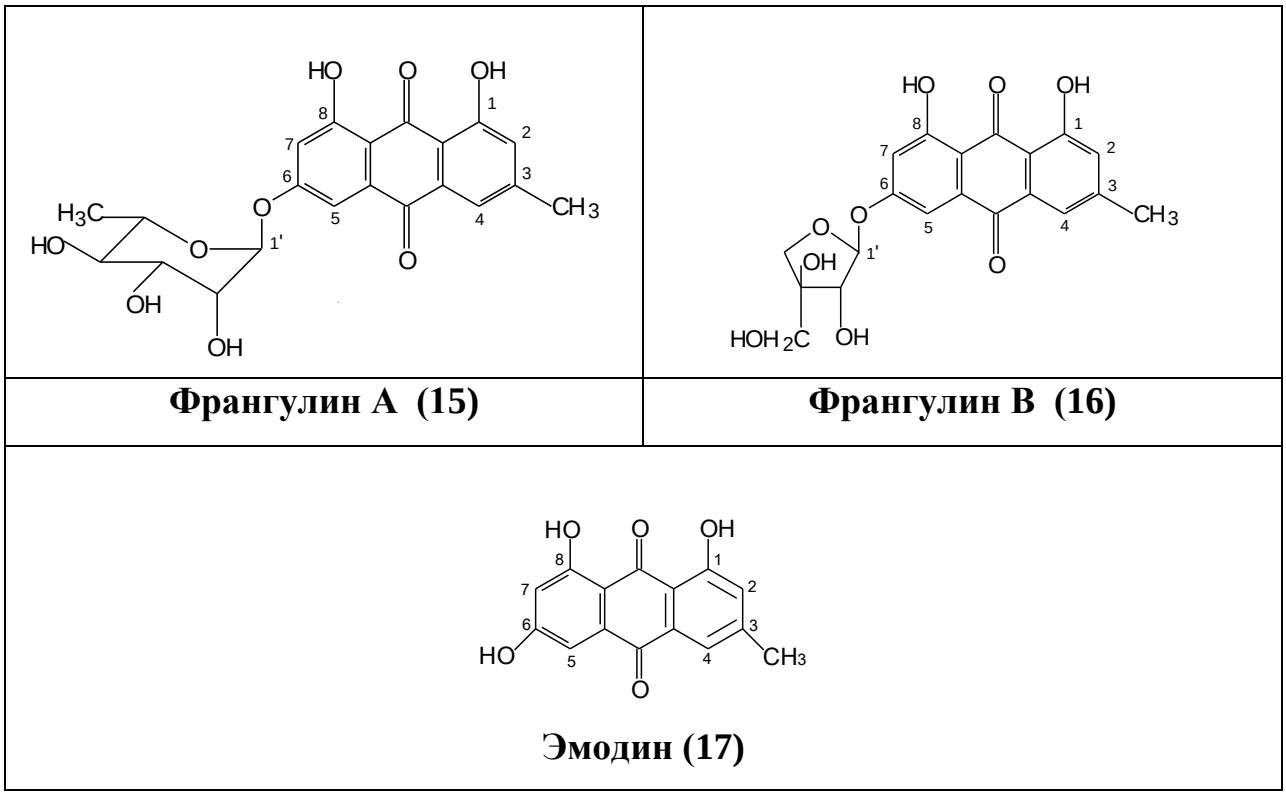


Рисунок 4.18 – Основные компоненты коры крушины ломкой

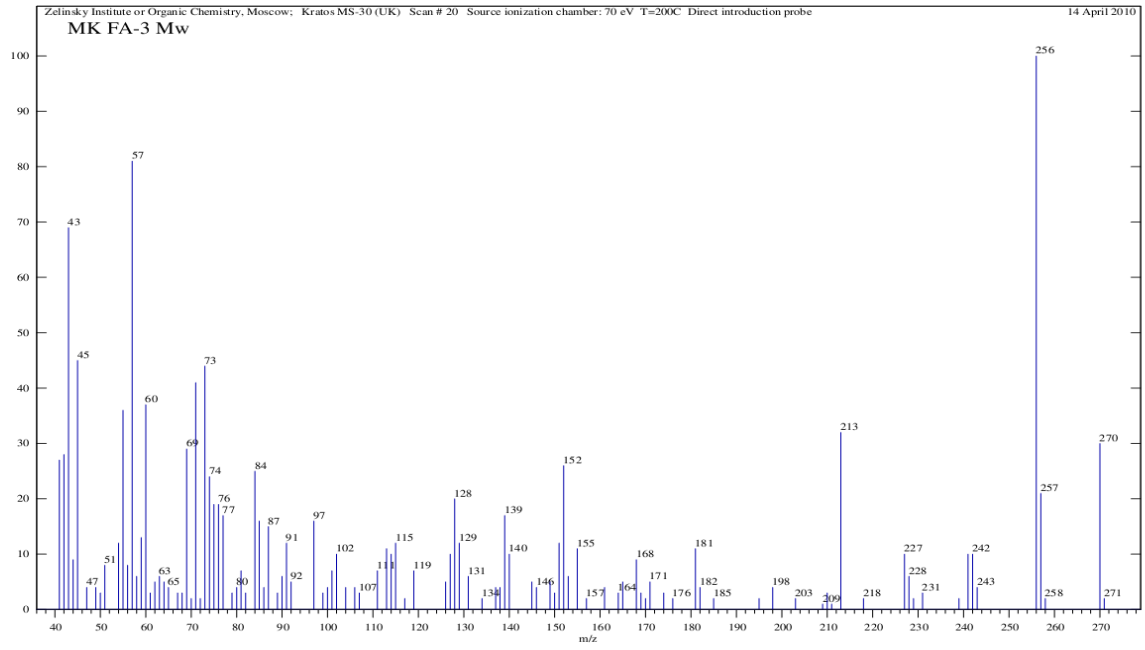


Рисунок 4.19 - Масс-спектр франгулина А

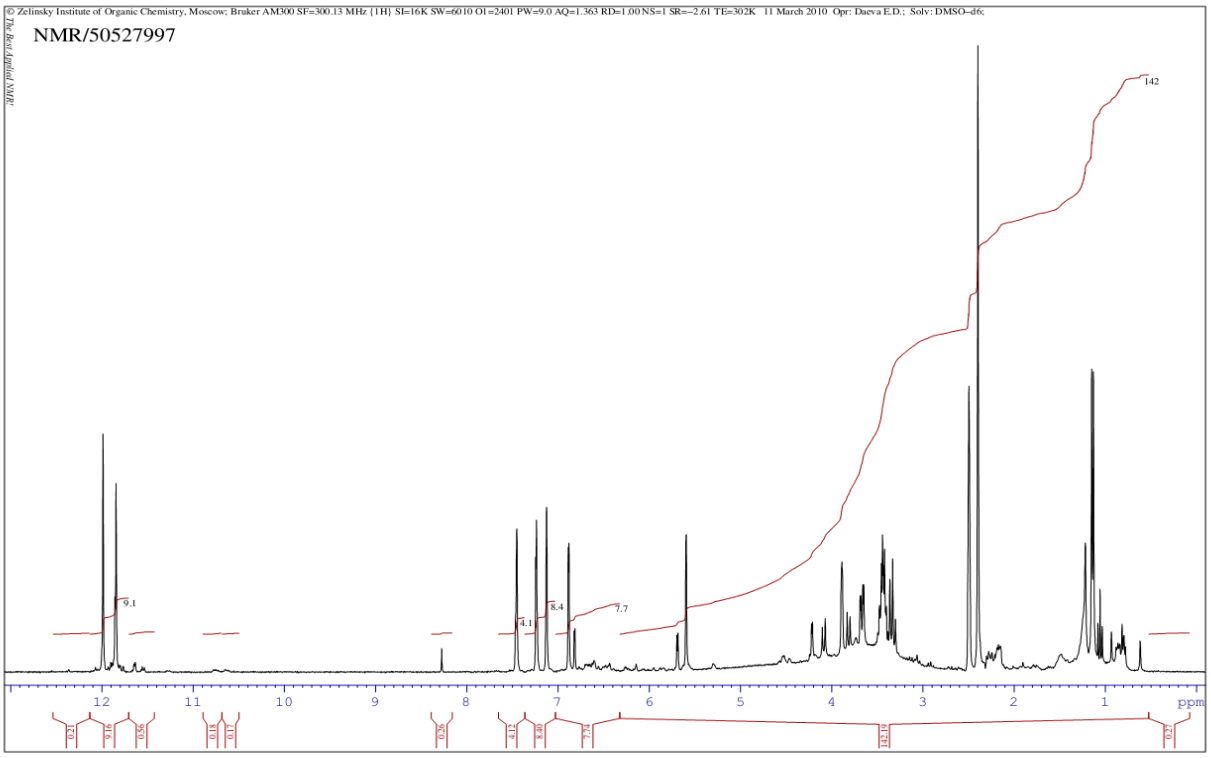


Рисунок 4.20 - ^{1}H-ЯМР спектр франгулина А в ДМСО-d_6.

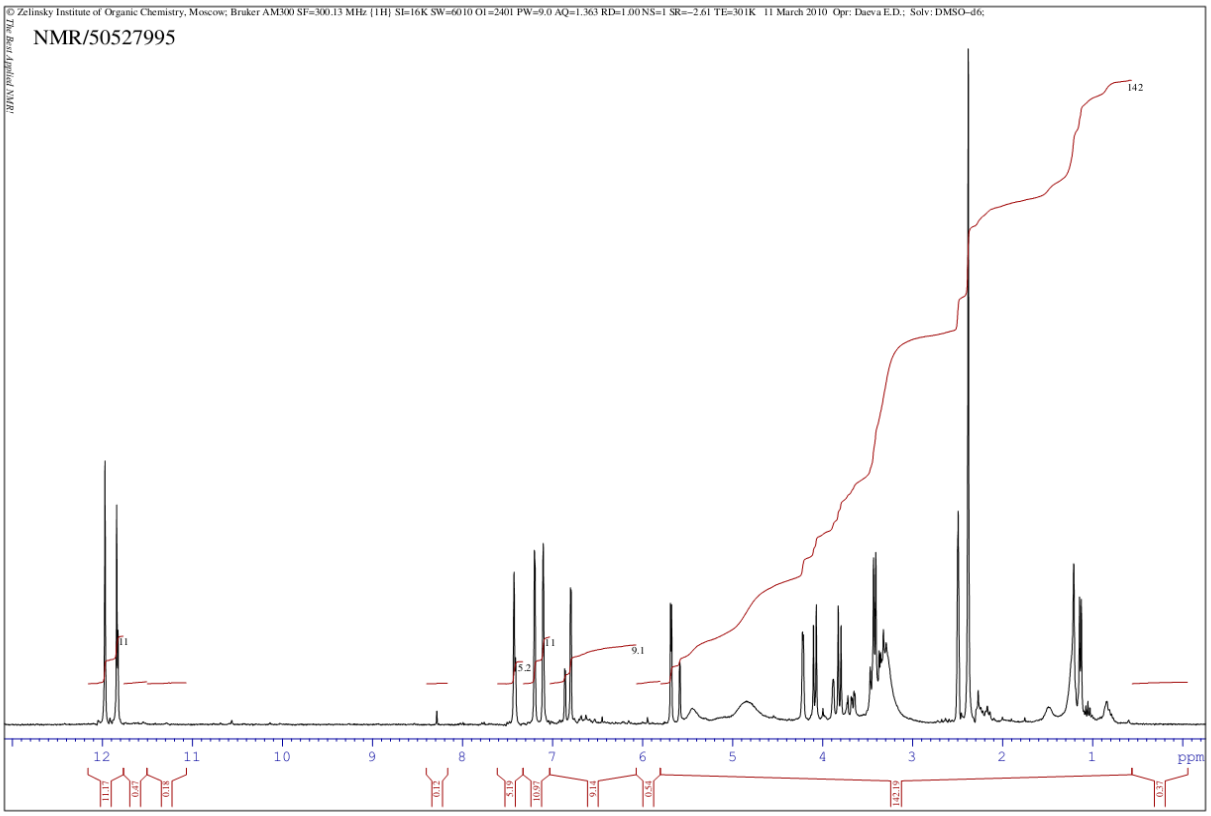
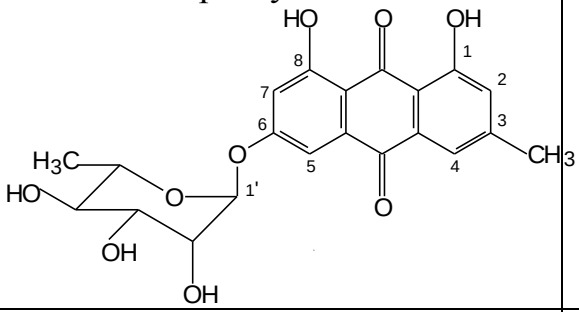
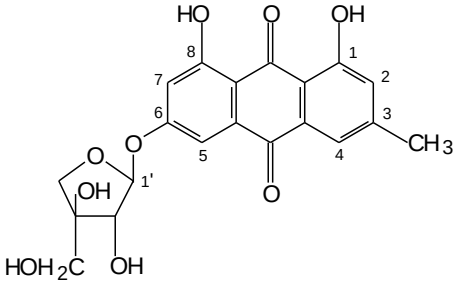
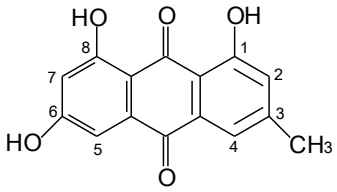


Рисунок 4.21 - ^{1}H-ЯМР спектр франгулина В в ДМСО-d_6.

4.4.2. Физико-химическая характеристика выделенных соединений и их производных из коры крушины ломкой

Таблица 4.4 - Физико-химические константы выделенных соединений

№	Название, химическая формула	Состав	M^+	Т.пл. °С	λ_{max} (EtOH), нм
15.	Франгулин А 	$C_{21}H_{20}O_9$	270 (M^+ аглико-на)	227-230	225, 262, 285, 300пл, 434
16.	Франгулин В 	$C_{20}H_{18}O_9$	270 (M^+ аглико-на)	184-187	224, 263, 285, 300пл, 434
17.	Эмодин 	$C_{15}H_{10}O_5$	270	254-255	222, 250, 268, 290, 439, 461

6-О-α-L-рамнопиранозид франгула-эмодина (франгулин А) (15), кристаллы оранжевого цвета состава $C_{21}H_{20}O_9$, т.пл. 227-230 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 225, 262, 285, 300пл, 434. При кислотном гидролизе франгулин А расщепляется на рамнозу и агликон, представляющий собой франгула-эмодин (1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон): M^+ агликона 270 (30 %), 256 (100 %) (рис. 25).Спектр ^{1}Н- ЯМР (300 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д., J/Гц): 1.14 (3Н, д, J = 6, CH_3 рамнозы), 2.40 (3Н, с, ароматическая CH_3 при С-3), 3.3-4.2 (4Н

рамнозы), 5.60 (1H, уширенный синглет, H-1^1 рамнопиранозы), 6.87 (1H, д, J = 2.5, H-2), 7.12 (1H, с, H-7), 7.23 (1H, с, J = 2.5, H-4), 7.47 (1H, с, H-5), 11.85 (1H, с, 5-OH группы), 12.00 (1H, с, 8-OH группы) (рис. 26).

6-О-β-О-апиофуранозид франгула-эмодина (франгулин В) (16), кристаллы оранжевого цвета состава $C_{20}H_{18}O_9$, M^+ агликона 270 (30 %), 256 (100 %), т.пл. 184-187 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 224, 263, 285, 300пл, 434. Спектр ^{1}H -ЯМР (300 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д., J/Гц): 2.28 (3H, с, ароматическая CH_3 при С-3), 3.2-4.3 (4H апиофуранозы), 5.58 (1H, д, J = 4, H-1^1 апиофуранозы), 6.82 (1H, д, J = 2.5, H-2), 7.12 (1H, с, H-7), 7.20 (1H, с, J = 2.5, H-4), 7.43 (1H, с, H-5), 11.84 (1H, с, 5-OH группы), 11.98 (1H, с, 8-OH группы) (рис. 27). При кислотном гидролизе франгулин В расщепляется на апиозу и агликон, идентифицированный как франгула-эмодин (1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон): M^+ агликона 270 (30 %), 256 (100 %).

Эмодин (1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон) (17). Игольчатые кристаллы оранжевого цвета состава $C_{15}H_{10}O_5$, Масс-спектр (70 eV, 200 °С, m/z, %): M+ 270 (100 %), 255 (3 %), 253 (8), 242 (7), 241 (23), 214 (4), 213 (17), т.пл. 254-255 °С (хлороформ-EtOH). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} нм): 222, 250, 268, 290, 439, 461пл. Спектр ЯМР ^{1}H (300 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д., J/Гц): 2.38 (3H, с, ароматическая CH_3 при С-3), 6.55 (1H, д, J = 2.5, H-7), 7.09 (2H, с, H-2 и H-4), 7.45 (^{1}H, д, J = 2.5, H-5), 11,19 (^{1}H, уш. с, 6-OH-группа), 11.92 и 12.00 (1H, с, OH-группы при С-1 и С-8).

Франгулин А и франгулин В впервые в Российской Федерации выделены из коры крушины ломкой, что соответствует зарубежным литературным данным и создает перспективу критического пересмотра методов стандартизации сырья и препаратов данного растения. Исследование методом ТСХ показало, что доминирующим антрагликозидом коры крушины ломкой является франгулин А. На хроматограмме водно-спиртового извлечения коры крушины ломкой обнаружены также франгулин В и франгула-эмодин. Кроме того, литературные данные [273, 281, 308] позволяют идентифицировать еще два антрагликозида - глюкофрангулин А и глюкофрангулин В. Результаты проведенных исследований

позволяют для определения подлинности коры крушины ломкой рекомендовать ТСХ, причем с использованием стандартного образца франгулина А, имеющего, на наш взгляд, особое диагностическое значение для сырья данного растения.

4.5. Исследование химического состава плодов жостера слабительного

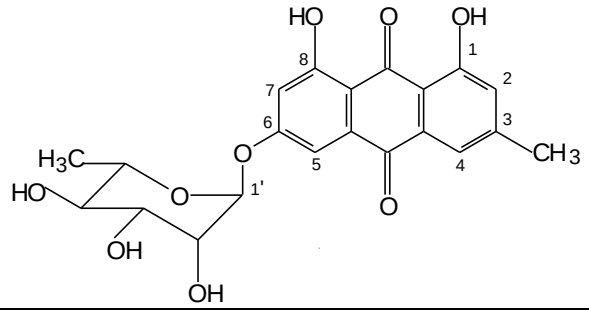
Исследование химического состава плодов жостера слабительного проводилось с целью выделения основных антраценпроизводных, которые использованы для разработки фармакопейной статьи «Жостера слабительного плоды» для Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания, в частности, для разделов «Подлинность» и «Количественное определение» (глава 5), а также для создания новой лекарственной формы на основе плодов жостера слабительного (глава 6).

4.5.1. Выделение и идентификация биологически активных веществ из плодов жостера слабительного

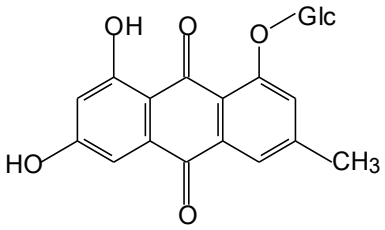
Плоды жостера слабительного, собранные в период плодоношения в августе-сентябре 2010-2012 гг. в Оренбургской области (г. Бузулук, близь реки Сакмара), в количестве 100 г подвергали исчерпывающему экстрагированию 70% спиртом этиловым. Водно-спиртовые экстракты упаривали на водяной бане до густого остатка (около 20 мл). Сухой порошок (сгущенный экстракт высушенный на полиамиде) переносили в хроматографическую колонку (10,0 г) со следующими параметрами: высота сорбента – 4,0 см, диаметр – 5 см. Колонку элюировали водой и смесью этанол-вода в различных концентрациях (20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 96%).

Фракции 14-17,18-23,24-28, содержащие франгулин А, франгулин В, 3-О-рутинозид рамнетина, 1-О-β-D-глюкопиранозид эмодина, были объединены и нанесены на силикагель с целью дальнейшей очистки. Сухой порошок (целевые фракции+полиамид) переносили в хроматографическую колонку (10,0 г) (высота сорбента – 4,0 см, диаметр – 5 см). Колонку элюировали водой и водным раствором спирта этилового (20%; 40%; 70%; 96%). Контроль за разделением осуществлялся

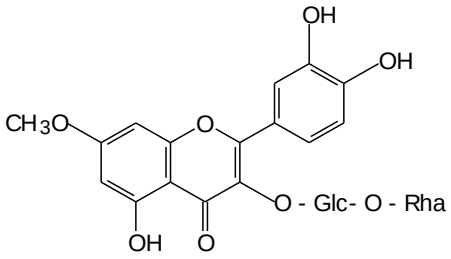
с помощью ТСХ-анализа. В результате проведенной очистки на колонке с полиамидом из элюата (фракции, элюированные 70% спиртом этиловым), было получено вещество I (доминирующий диагностический 3-О-рутинозид рамнетина (флавоноид) и 1-О-β-D-глюкопиранозид эмодина (антрагликозид) и франгулин А (рис. 4.22-4.25).



Франгулин А (15)



1-О-β-D-глюкопиранозид эмодина (18)



3-О-рутинозид рамнентина (19)

Рисунок 4.22 – Основные компоненты плодов жостера слабительного

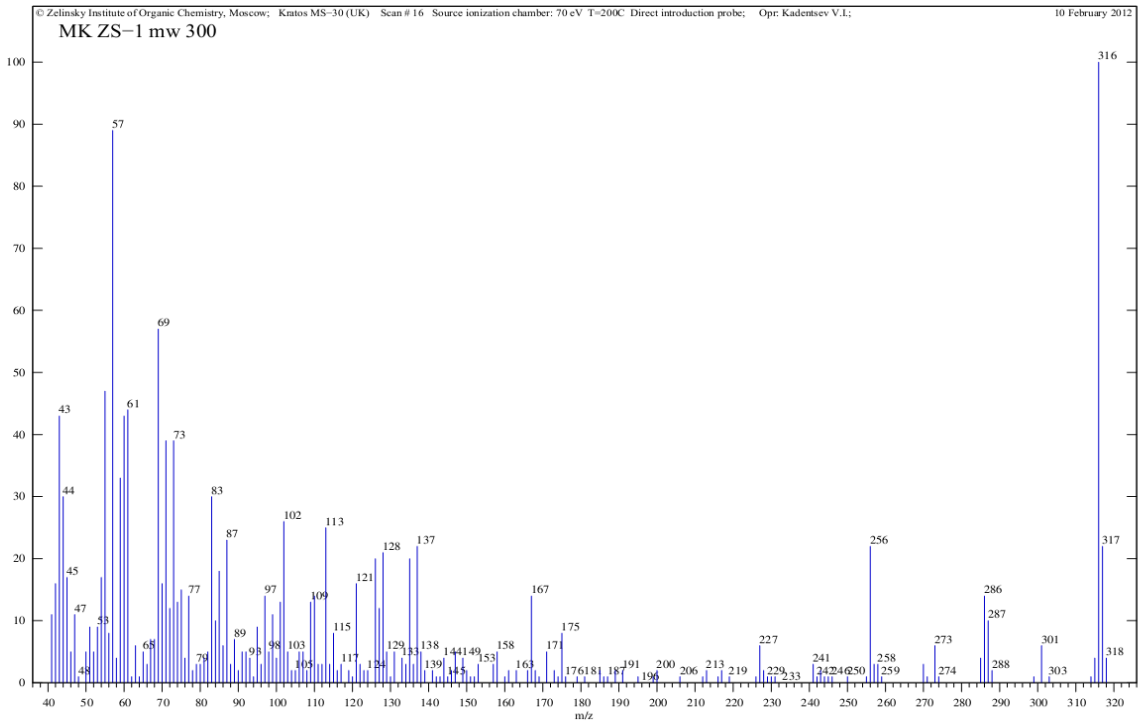


Рисунок 4.23 - Масс-спектр 3-О-рутинозида рамнетина

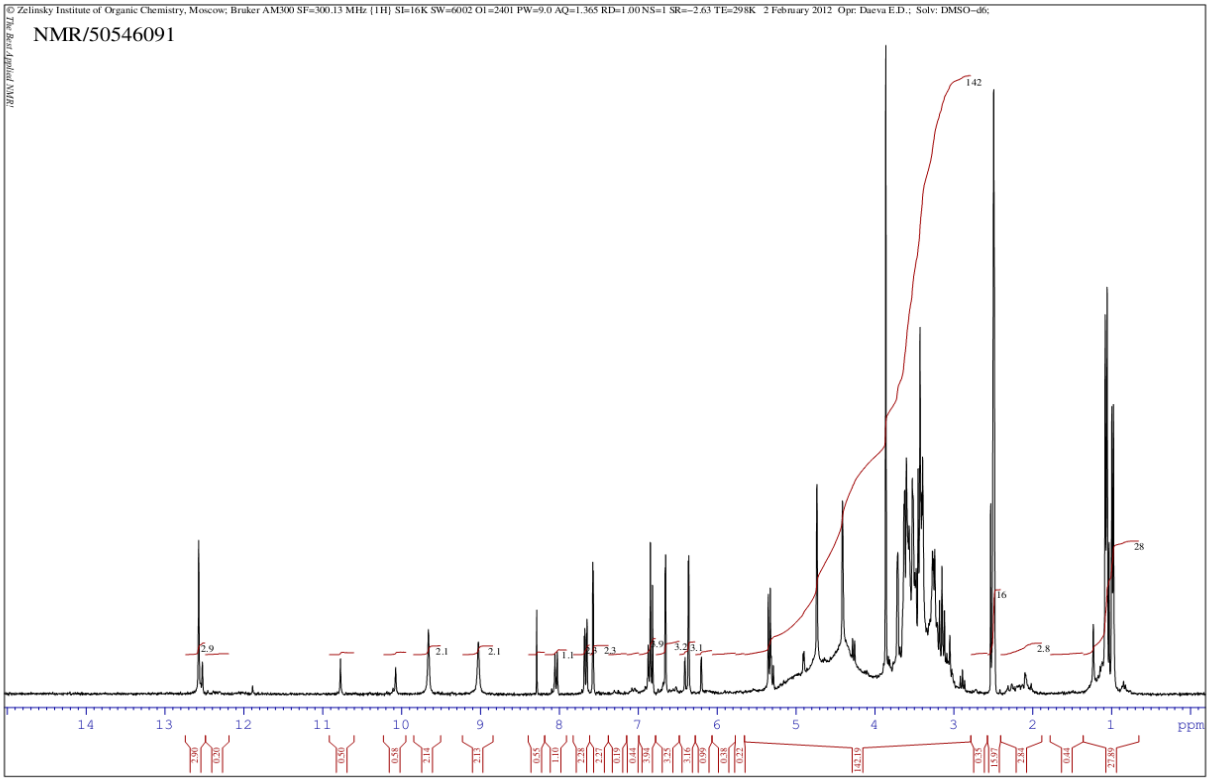


Рисунок 4.24 - ^{1}H-ЯМР-спектр 3-О-рутинозида рамнетина в ДМСО-d_6.

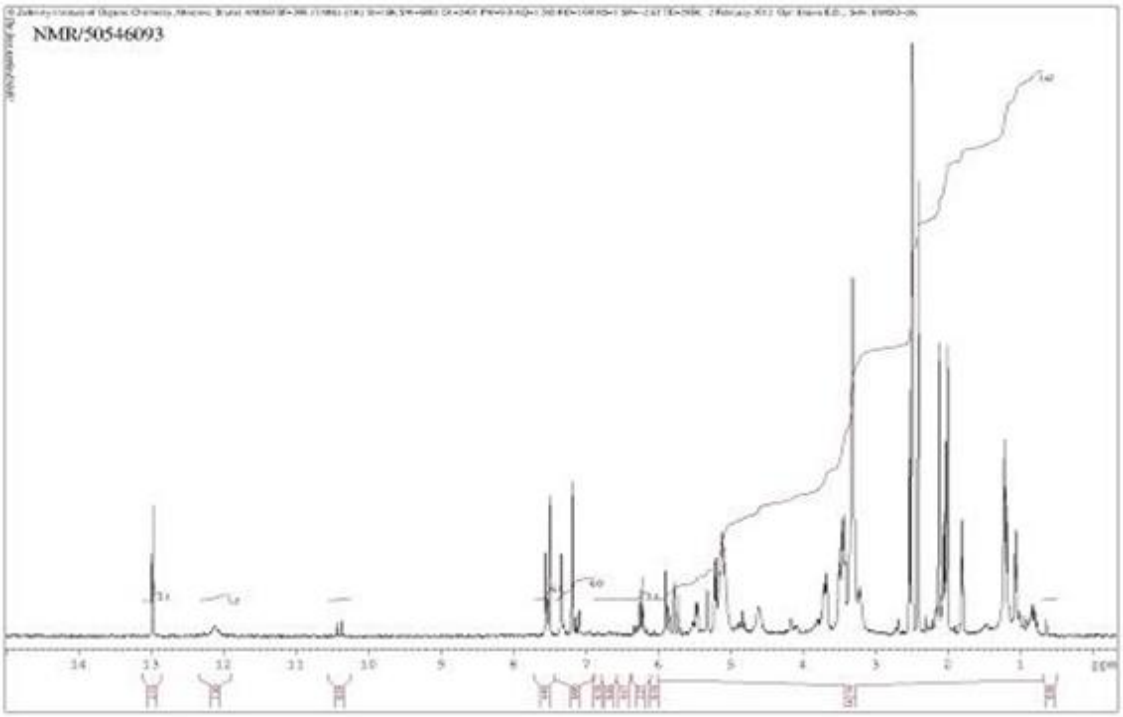
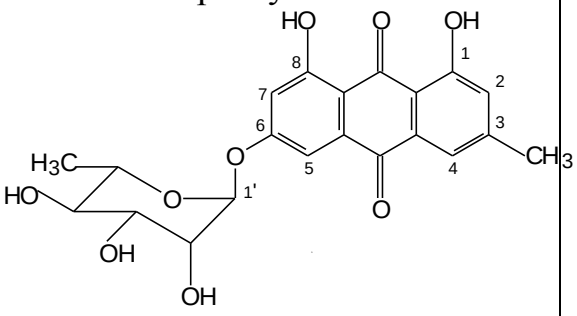
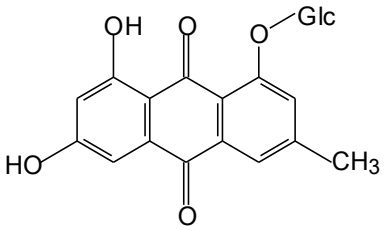
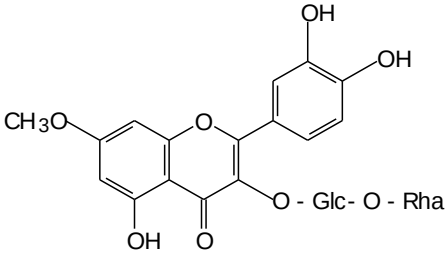


Рисунок 4.25 - ^{1}H-ЯМР-спектр 1-O-β-D-глюкопиранозид эмодина в ДМСО-d_6.

4.5.2. Физико-химическая характеристика выделенных соединений и их производных из плодов жостера слабительного

Таблица 4.5 - Физико-химические константы выделенных соединений

№	Название, химическая формула	Состав	M^+	Т.пл. °С	λ_{max} (EtOH), нм
15.	Франгулин А 	$C_{21}H_{20}O_9$	270 (M^+ агли-кона)	227-230	225, 262, 285, 300пл, 434
18.	1-O-β-D-глюкопиранозид эмодина 	$C_{21}H_{20}O_{10}$	270 (M^+ агли-кона)	225-229	229, 271, 422

19.	3-О-рутинозид рамнетина 	$C_{28}H_{32}O_{16}$	316 (М+ агли-кона)	193-195	264, 272 пл, 368 нм

1-О-β-D-глюкопиранозид эмодина (18), кристаллы оранжевого цвета состава $C_{21}H_{20}O_{10}$, M^+ агликона 270 (100%); УФ спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 229, 271, 422. Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д., J/Гц): 2.40 (3Н, с, ароматическая CH_3 при С-3), 3.1-4.6 (м, 4Н глюкопиранозы), 5.16 (1Н, д, J = 7, Н-1^{11} глюкопиранозы), 6.32 (1Н, д, J = 2.5, Н-2), 7.18 (1Н, с, Н-7), 7.50 (1Н, с, Н-5), 7.56 (1Н, д, J = 2.5, Н-4), 11.98 (1Н, с, 8-ОН группы) (рис. 29). При кислотном гидролизе франгулин В расщепляется на апиозу и агликон, идентифицированный как франгула-эмодин (1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон): M^+ агликона 270 (30%), 256 (100%).

3-О-рутинозид рамнетина (19). Светло-желтое кристаллическое вещество состава $C_{28}H_{32}O_{16}$; УФ-спектр: λ_{max} 264, 272 пл, 368 нм. Спектр ^1H -ЯМР (300 МГц, ДМСО-d_6, δ, м.д., J/Гц): 7,66 (дд, 2,5 и 9 Гц, Н-6^1), 7,58 (д 9 Гц, Н-2^1), 6,82 (д, 9 Гц, Н-5^1), 6,65 (д, 2,5 Гц, Н-8), 6,35 (д, 2,5 Гц, Н-6), 5,32 (д, 7 Гц, Н-1^{11} глюкозы), 4,82 (уш. с, Н-1^{111} рамнозы), 3,60-3,0 (м, 6Н глюкозы + 4Н рамнозы), 1,10 (д, 6 Гц, 3Н, CH_3 рамнозы) (рис. 28). При кислотном гидролизе расщепляется на глюкозу, рамнозу и агликон, идентифицированный как рамнетин (3,5,3^1,4^1-тетрагидрокси-7-метоксифлавон): M^+ агликона 316 (100%), 167 (А+Н) (15%), 137 (В) (20%).

В результате исследования компонентного состава водно-спиртовых извлечений плодов жостера слабительного подтверждено, что доминирующим компонентом сырья данного растения является флавоноидное соединение - 3-О-рутинозид рамнетина, что вызывает интерес с точки зрения идентификации сырья, в разделе «Количественное определение» необходимо опираться на антраценпроизводные, учитывая их вклад в основное фармакологическое действие – слабительный эффект.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. В результате изучения химического состава: листьев сенны александрийской выделено 3 индивидуальных вещества (8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона, кемпферол-3-О-гентиобиозид, а также антраценпроизводное, названное нами неореином, который является новым природным соединением и имеет строение 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинона); из плодов сенны александрийской выделено 4 индивидуальных вещества (изорамнетин-3-О-гентиобиозид, кемпферол-3-О-гентиобиозид, реин и сеннозид В; из корней марены красильной выделено 1 индивидуальное вещество (руберитриновая кислота); коры крушины ломкой и плодов жостера слабительного выделено 5 основных индивидуальных веществ, 4 из них относятся к антраценпроизводным (франгулин А, франгулин В, 1-О-β-D-глюкопиранозид эмодина эмодин), одно выделенное вещество относится к флавоноидам (3-О-рутинозид рамнетина).

2. Выделенные вещества из лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизодные, идентифицированы с помощью ^{1}Н-ЯМР-, ^{13}С-ЯМР-, УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии, а также результатов химических превращений как антраценпроизводные – 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон, 1,8-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (реин), сеннозид В, руберитриновая кислота, 6-О-α-L-рамнопиранозид франгула-эмодина (франгулин А), 6-О-β-О-апиофуранозид франгула-эмодина (франгулин В), 1-О-β-D-глюкопиранозид эмодина, как флавоноиды - кемпферол-3-О-гентиобиозид, изорамнетин-3-О-гентиобиозид, 3-О-рутинозид рамнетина, как производное нафталина - 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона, химическое строение которого впервые изучено с использованием ^{13}С-ЯМР-спектроскопии.

3. Определены доминирующие вещества в листьях сенны александрийской -8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (1) (производное нафталина), кемпферол-3-О-гентиобиозид (флавоноид) и 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (антрахинон), в плодах сенны александрийской - изорамнетин-3-О-гентиобиозид (флавоноид) и 1,8-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (реин) (антрахинон), в корнях марены

красильной - руберитриновая кислота (антрахинон), в коре крушины ломкой - франгулин А и франгулин В (антрахинон), в плодах жостера слабительного - франгулин А (антрахинон), 3-О-рутинозид рамнетина (флавоноид), представляющие интерес с точки зрения совершенствования химической стандартизации лекарственного сырья и лекарственных препаратов изучаемых растений.

ГЛАВА 5. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СТАНДАРТИЗАЦИИ ФАРМАКОПЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ

Сравнительная оценка подходов к стандартизации сырья фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные (табл. 5.1 и 5.2), свидетельствует о том, что во многих случаях в разделе «Качественные реакции» не предусмотрено использование ТСХ и анализ осуществляется с использованием химических реакций. Что касается раздела «Количественное определение», то, во-первых, существующие методики крайне громоздки и многостадийны и, во-вторых, не во всех случаях расчет содержания суммы антраценпроизводных осуществляют на вещества, содержащиеся в анализируемом ЛРС. Кроме того, в нормативной документации некоторых видов сырья (плоды сенны александрийской, корни марены красильной) анализ не предусмотрен [19, 52, 57]. Всё это свидетельствует об актуальности проведения исследований в области стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, содержащих антраценпроизводные.

В настоящей главе рассматривают проблемы анализа ЛРС и фитопрепаратов сенны александрийской и марены красильной [52, 57, 272, 330].

Таблица 5.1 - Сравнительный анализ подходов к стандартизации ЛРС, используемых в мировой фармацевтической практике:

качественный анализ

№ п/п	Наименование ЛРС	ГФ СССР XI издания	ГФ РФ XIII издания	Британская фармакопея	Фармакопея США
1.	Крушины ломкой кора	Пробирочные реакции: -реакция со щелочью;	ТСХ. СО: барбалоина	ТСХ. СО:	-

		-реакция Борнтрегера		франгула-эмодин, франгулины Пробироч-ная реакциия: -реакция Борнтрегера	
2.	Жостера слабительного плоды	Пробирочная реакция: -реакция со щелочью	ТСХ. СО: 3-О-рутинозид рамнетина	-	-
3.	Щавеля конского корни	-	ТСХ. СО: 8-О-β-D-глюкозида эмодина	-	-
4.	Сенны алексан-дрийс-кой листья	Пробирочная реакция: -реакция определения оксиантро-хинонов	ТСХ. СО: сеннозида В, барбалоина	ТСХ. СО: Сеннозиды А, В, С, D.	Пробироч-ная реакция: -реакция с гидрокси-дом калия в кислоий среде с добавле-нием эфира и аммония гидроксида
5.	Сенны алексан-дрийс-кой плоды	-	-	-	-
6.	Марены красильной корни	-	-	-	-
7.	Ревеня тангутского корни	Пробирочная реакция: -реакция Борнтрегера	ТСХ. СО: эмодин.	-	-

8.	Алоэ древовидное листья и побеги	-	-	-	Пробирочные реакции: -реакция с азотной кислотой -реакция с гидроксидом аммония

Таблица 5.2 - Сравнительный анализ подходов к стандартизации ЛРС, используемых в мировой фармацевтической практике:

количественный анализ

№ п/п	Наименование ЛРС	ГФ СССР XI издания	ГФ РФ XIII издания	Британская фармакопея	Фармакопея США
1.	Крушины ломкой кора	Фотоэлектроколориметрия: λ=530 нм. Сумма антраценпроизводных в пересчете на истизин	Спектрофотометрия: λ=515 нм. Сумма антраценпроизводных в пересчете на глюкофрангулин А; Фотоэлектроколориметрия: λ=530 нм. Сумма антраценпроизводных в пересчете на истизин	Спектрофотометрия: λ=515 нм. Сумма антраценпроизводных в пересчете на глюкофрангулин А	-
2.	Жостера слабительного плоды	-	Спектрофотометрия: λ=524 нм. Сумма антраценпроизводных в	-	-

			пересчете на франгулин А		
3.	Щавеля конского корни	-	Спектро-фотометрия: λ=520 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете на 8-О-β-D-глюкозида эмодина	-	-
4.	Сенны александрийс-кой листья	Спектро-фотометрия: λ=523 нм. Сумма антрацен-производных в пересчете на хризофанову ю кислоту	Спектро-фотометрия: λ=523 нм. Сумма антрацен-производных в пересчете на хризофанову ю кислоту	Спектро-фотометрия : λ=515 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете на сеннозид В	Флуори-метрия: λ=392 нм, λ=505 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете на сеннозиды
5.	Сенны александрийс-кой плоды	-	-	-	-
6.	Марены красильной корни	Фото-электро-колори-метрия: λ=530 нм. Сумма антрацен-производных в пересчете на абсолютно сухое вещество	-	Спектро-фотометрия : λ=530 нм. Сумма антрацен-производ-ных в пересчете на абсолютно сухое вещество	-
7.	Ревеня тангутского корни	Фото-электро-колори-метрия:	Спектро-фотометрия: λ=468 нм. Сумма	Фото-электро-колори-метрия:	-

		λ=530 нм. Сумма антрацен-производных в пересчете на истизин	антрацен-производ-ных в пересчете на барбалоин	λ=530 нм. Сумма антрацен-производны х в пересчете на истизин	
8.	Алоэ древовидное листья и побеги	-	-	-	-

5.1. Стандартизация сырья фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные

5.1.1. Качественное определение антраценпроизводных в листьях сенны александрийской

Для определения подлинности сырья «Сенны листья», использовали ТСХ-анализ, основанный на обнаружении и идентификации доминирующего антраценпроизводного, как было установлено в ходе изучения химического состава лекарственного растительного сырья, а также качественные реакции [45, 114, 115, 116, 137, 147, 198, 298, 338]. В ходе разработки методики были проведены исследования по выбору оптимальных условий хроматографирования, позволяющие эффективно разделить основные компоненты сырья и однозначно идентифицировать доминирующее БАС – неореин [129].

В результате проведенных опытов с различными хроматографическими системами (хлороформ-этанол, хлороформ-метанол, хлороформ-метанол-вода в различных соотношениях) предпочтение было отдано системе растворителей хлороформ-метанол-вода (26:14:3), обеспечивающей наиболее четкое разделение антраценпроизводных, в том числе и доминирующего компонента неореина [129, 130, 298]. Для нанесения на хроматограмму было использовано водно-спиртовое извлечение, приготовленное для определения количественного содержания суммы антраценпроизводных. Водно-спиртовое извлечение наносили в различных объемах от 0,01мл до 0,05 мл. На хроматограмме наилучшее

разделение веществ происходит при использовании объема 0,02 мл извлечения. В качестве стандартных образцов сравнения были использованы: кемпферол-3-О-гентиобиозид, неореин, 8-0-β-D-глюкопиранозид торахризона [129, 130, 298].

5.1.1.1.Методика качественного определения антраценпроизводных в листьях сенны александрийской

На стартовую линию хроматографической пластинки «Sorbfil» (ПТСХ-АФ-А-УФ) 7,5 х 15 мм наносят 20 мкл (0,02 мл) полученного извлечения из листьев сенны александрийской (см. раздел "Количественное определение антраценпроизводных"), рядом 5 мкл (0,005 мл) стандартных образцов - кемпферола-3-О-гентиобиозида, неореина, 8-0-β-D-глюкопиранозида торахризона. Пластинку высушивают на воздухе 5 минут, помещают в камеру с залитой системой растворителей: хлороформ-метанол-вода (26:14:3) и проводят хроматографирование восходящим способом (смесь растворителей используют свежеприготовленной и вносят в камеру перед хроматографированием непосредственно) [129, 130, 298].

При прохождении фронта растворителя до конца пластинки, пластинку вынимают, сушат в вытяжном шкафу до удаления запаха растворителей, высушивают.

При просмотре хроматограммы в УФ-спектре при длине 254 нм неореин обнаруживается в виде доминирующего пятна с ярко желтой флуоресценцией (R_f около 0,3), 8-0-β-D-глюкопиранозид торахризона обнаруживается в виде пятна с фиолетовой флуоресценцией (R_f около 0,6), кемпферол-3-О-гентиобиозид обнаруживается в виде пятна с оранжево-красной флуоресценцией (R_f около 0,2) [129, 130, 298]. Для обнаружения веществ хроматограмму просматривали в видимом свете, УФ-свете (254 и 366 нм) и после проявления с раствором диазобензолсульфокислоты. При обработке реактивом хроматографические пластинки нагревали при температуре 110 °С в течение 5 минут в сушильном шкафу. При этом неореин проявляется в виде доминирующего пятна розового

цвета, а 8-0-β-D-глюкопиранозид торахризона проявляется в виде пятна красного цвета, кемпферол-3-О-гентиобиозид - в виде пятна оранжевого цвета (рис. 5.1) [129, 130, 298].

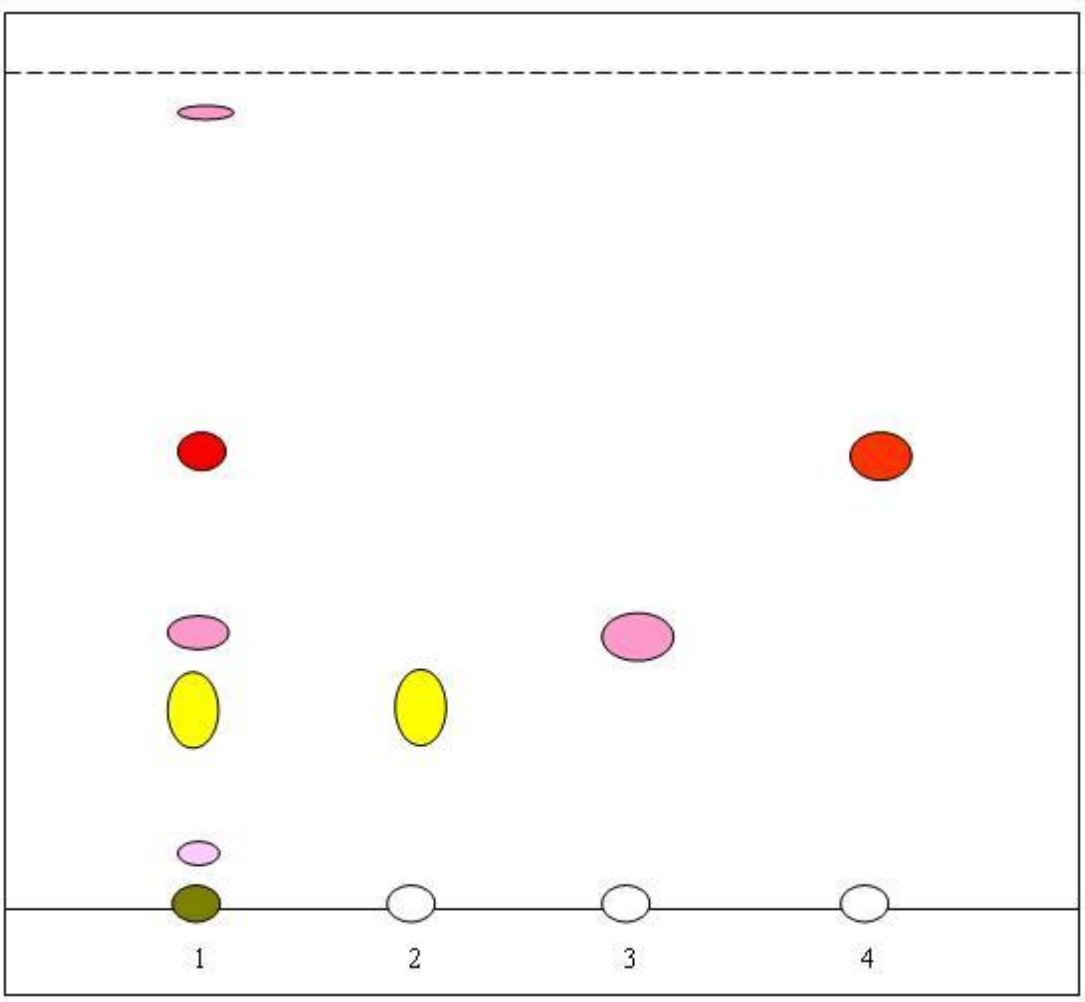


Рисунок 5.1 - Хроматографический профиль водно-спиртового извлечения из листьев сенны александрийской
Обозначения: 1 – водно-спиртовое извлечение сырья; 2 - кемпферол-3-О-гентиобиозид; 3 - неореин; 4 - 8-0-β-D-глюкопиранозид торахризона.

Определение подлинности листьев сенны (раздел «Хроматографический анализ» целесообразно осуществлять путем обнаружения не только сеннозида В, но и доминирующих веществ данного сырья – неореина (антрценпроизводное), кемпферол-3-О-гентиобиозида (флавоноид), 8-0-β-D-глюкопиранозид торахризона (производное нафталина), имеющих диагностическое значение [129, 130, 298].

При проведении валидации методики оценивали специфичность хроматографической системы. Специфичность методики заключалась в совпадении результатов хроматографических исследований основных зон между собой для разных образцов сырья, заготовка которых проводилась в течение нескольких лет и соответствию описанию методики.

В ходе исследования был проведен анализ нескольких образцов сырья сенны александрийской. Критерий приемлемости методики выражался в совпадении зон адсорбции разных образцов сырья сенны александрийской и соответствие данных зон описанию методики. Хроматографические зоны исследуемых образцов сырья сенны александрийской были одинаковыми по основной зоне и совпадали с описанием методики. Разработанная методика дает возможность четко дифференцировать зоны в изучаемых видах сырья, которые соответствуют по цвету стандартным образцам - кемпферол-3-О-гентиобиозиду, неореину, 8-0-β-D-глюкопиранозиду торахризона, а также по величине R_f [129, 130, 298].

5.1.1.2 Качественное определение антраценпроизводных в плодах сенны александрийской

С целью определения подлинности сырья «Сенны александрийской плоды» использовали ТСХ-анализ, основанный на обнаружении антрахинонов [114, 115, 116, 137, 147].

В результате проведенных опытов с различными хроматографическими системами (хлороформ-этанол, хлороформ-метанол, хлороформ-метанол-вода в различных соотношениях) предпочтение было отдано системе растворителей хлороформ-метанол-вода (26:14:3), обеспечивающей наиболее четкое разделение антраценпроизводных, в том числе и доминирующего компонента реина. При просмотре хроматограммы в УФ-спектре при длине волны 254 нм реин обнаруживается в виде доминирующего пятна оранжево-красного цвета (Rf около 0,4), 8-О-глюкозид торахризона (производное нафталина) обнаруживается в виде пятна фиолетового цвета (R_f около 0,6), изорамнети-3-О-гентибиозид (флавоноид) обнаруживается в виде пятна красно-коричневого цвета (R_f около 0,3) [129, 140].

Для обнаружения вещества хроматограмму просматривали в видимом свете, УФ-свете (254 и 366 нм) и после проявления щелочным раствором диазобензолсульфокислоты. При обработке реактивом хроматографические пластинки нагревали при температуре 110 °С в течение 5 минут в сушильном шкафу (рис. 5.2) [129, 140].

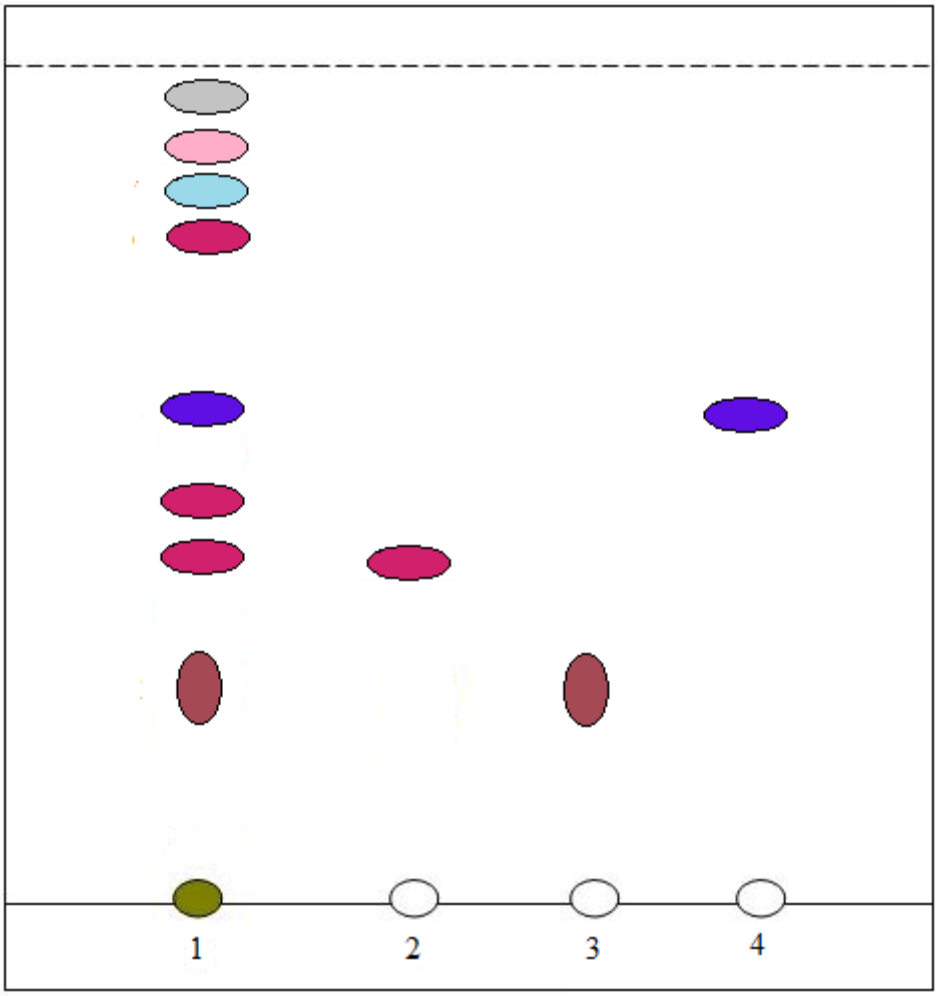


Рисунок 5.2 - Хроматографический профиль водно-спиртового извлечения из плодов сенны александрийской
Обозначения: 1 – водно-спиртовое извлечение сырья; 2 – реин; 3 - изорамнети-3-О-гентибиозид; 4 - 8-О-глюкозид торахризона.

Определение подлинности плодов сенны (раздел «Хроматографический анализ» целесообразно осуществлять путем обнаружения не только сеннозида В, но и доминирующих веществ данного сырья – реина (антрценпроизводное), изорамнети-3-О-гентибиозид (флавоноид), 8-О-глюкозид торахризона (производное нафталина), имеющих диагностическое значение.

При проведении валидации методики оценивали специфичность хроматографической системы. Специфичность методики заключалась в совпадении результатов хроматографических исследований основных зон между собой для разных образцов сырья, заготовка которых проводилась в течение нескольких лет и соответствию описанию методики.

В ходе исследования был проведен анализ нескольких образцов сырья сенны александрийской. Критерий приемлемости методики выражался в совпадении зон адсорбции разных образцов сырья сенны александрийской и соответствие данных зон описанию методики. Хроматографические зоны исследуемых образцов сырья сенны александрийской были одинаковыми по основной зоне и совпадали с описанием методики. Разработанная методика дает возможность четко дифференцировать зоны в изучаемых видах сырья, которые соответствуют по цвету стандартным образцам - изорамнетин-3-О-гентибиозиду, реину, 8-О-глюкозиду торахризона, а также по величине R_f.

5.1.1.3 Качественное определение антраценпроизводных в корнях марены красильной

Тонкослойную хроматографию использовали для качественного определения сырья «Марены красильной корни». ТСХ-анализ основан на обнаружении и идентификации доминирующего антраценпроизводного, как было установлено в ходе изучения химического состава лекарственного растительного сырья, а также качественные реакции [114, 115, 116, 137, 146, 147, 211, 251]. Нами были разработаны оптимальные условия хроматографирования, позволяющие эффективно разделить основные компоненты сырья и однозначно идентифицировать доминирующее БАС – руберитриновую кислоту [322].

На предварительном этапе было проведено исследование по определению оптимальной хроматографической системы для разделения анализируемых веществ. Были апробированы несколько систем растворителей: хлороформ - спирт этиловый 95% - вода (26:16:3); *н*-бутанол - ледяная уксусная кислота - вода 4:1:2 или 4:1:5 (верхняя фаза), а также ряд бинарных систем на основе хлороформа и

спирта этилового в различных соотношениях. В качестве оптимальной системы растворителей для хроматографического разделения антраценпроизводных нами была рекомендована смесь хлороформ - спирт этиловый 95% - вода (26:16:3). Детекцию веществ осуществляли в видимой области спектра и в УФ-свете (254 нм и 366 нм) [322].

С использованием ТСХ-анализа в корнях марены красильной в предложенных условиях хроматографического разделения на пластинках «Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» или «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» при просмотре в видимом свете обнаруживается доминирующие пятна антраценпроизводной природы, имеющее желтую окраску с величиной R_f около 0,3 (руберитриновая кислота), а также темно-красное пятно с величиной R_f около 0,8 (эмодин) [322].

После обработки реактивом диазобензолсульфокислоты (ДСК) в насыщенном растворе карбоната натрия хроматографические пластинки нагревали при температуре 110 °С в течение 2 мин в сушильном шкафу. При этом руберитриновая кислота проявляется в виде хорошо заметного пятна ярко-желтого цвета (рис. 5.3) [322].

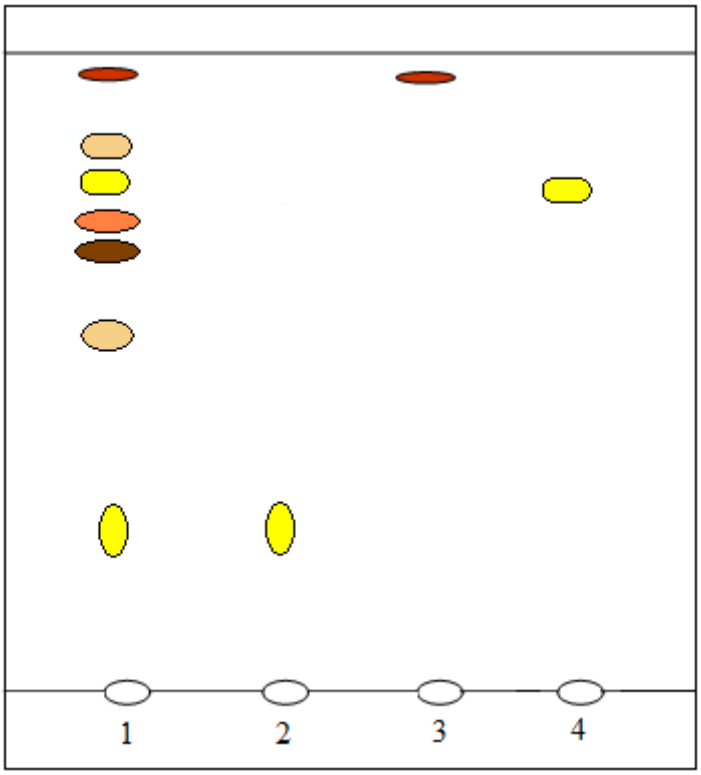


Рисунок 5.3 - Хроматографический профиль водно-спиртового извлечения из корней марены красильной

*Обозначения:*1 – водно-спиртовое извлечение сырья;
2 – руберитриновая кислота; 3 – эмодин; 4 – ализарин.

Определение подлинности корней марены красильной (раздел «Хроматографический анализ» целесообразно осуществлять не только путем обнаружения доминирующего вещества - руберитриновой кислоты, но так же и эмодина (антрценпроизводное), и ализарина (антраценпроизводное), имеющих диагностическое значение.

При проведении валидации методики оценивали специфичность хроматографической системы. Специфичность методики заключалась в совпадении результатов хроматографических исследований основных зон между собой для разных образцов сырья, заготовка которых проводилась в течение нескольких лет и соответствию описанию методики.

В ходе исследования был проведен анализ нескольких образцов сырья марены красильной. Критерий приемлемости методики выражался в совпадении зон адсорбции разных образцов сырья марены красильной и соответствие данных зон описанию методики. Хроматографические зоны исследуемых образцов сырья марены красильной были одинаковыми по основной зоне и совпадали с описанием методики. Разработанная методика дает возможность четко дифференцировать зоны в изучаемых видах сырья, которые соответствуют по цвету стандартным образцам руберитриновой кислоты, эмодина, ализарина, а также по величине R_f.

5.1.2 ИК-спектрометрия фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные

На основе результатов углубленного качественного анализа листьев, плодов сенны александрийской, корней марены красильной проведено исследование данных видов сырья с использованием ИК-спектроскопии [114, 115, 116, 137, 146, 147, 211, 212].

Сравнительное исследование компонентного состава водно-спиртовых извлечений из листьев, плодов сенны александрийской, корней марены красильной

методом ИК-спектроскопии осуществляли с использованием веществ, выделенных из сырья данных растений, а именно: сеннозида В, неореина, кемпферол-3-О-гентиобиозида, 8-0-β-D-глюкопиранозид торахризона, эмодина, руберитриновой кислоты, идентифицированные на основе данных ЯМР-, УФ-, ИК- и масс-спектров.

Лекарственное растительное сырье, содержащего антраценпроизводные, предварительно измельчили до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Из измельченного сырья делали извлечение по схеме:

Около 1 г (точная навеска) измельченного воздушно-сухого сырья помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл с притертой пробкой и прибавляют 50 мл 70% спирта этилового. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 90 мин. Затем содержимое колбы отстаивают 10 мин, фильтруют через бумажный фильтр с красной полосой в мерную колбу вместимостью 200 мл. Извлечение повторяют еще 2 раза вышеуказанным способом и после охлаждения фильтрата доводят объем раствора 70% спиртом до метки [316, 317, 318, 319].

Полученное извлечение анализировали методом ИК-спектроскопии (фурье-спектрометр инфрокрасный Nicolet iS5).

В ИК-спектрах антрагликозидов, в структуре которых имеются две карбонильные группы (С=О), обнаруживаются две характерные интенсивные полосы поглощения в области 1625-1620 $см^{-1}$ (рис. 5.4-5.8) [316, 317, 318, 319].

Интенсивная полоса поглощения в ИК-спектрах в области 3358 $см^{-1}$. обусловлена валентными колебаниями углеводных ОН-групп, что подтверждает гликозидную природу веществ. Аналогичная полоса поглощения наблюдается и в ИК-спектре флавоноида сенны александрийской (кемпферол-3-О-гентиобиозида), что также подтверждает гликозидную природу вещества (рис. 5.5, 5.6) [316, 317, 318, 319].

В области 1400-1200 $см^{-1}$ ИК-спектров наблюдаются также полосы поглощения, характерные для фенольных соединений, в том числе антраценпроизводных и флавоноидов. В области 3100-3000 $см^{-1}$ ИК-спектров

наблюдаются также полоса поглощения, обусловленная валентными колебаниями ароматических CH=CH (рис. 5.4-5.8) [316, 317, 318, 319].

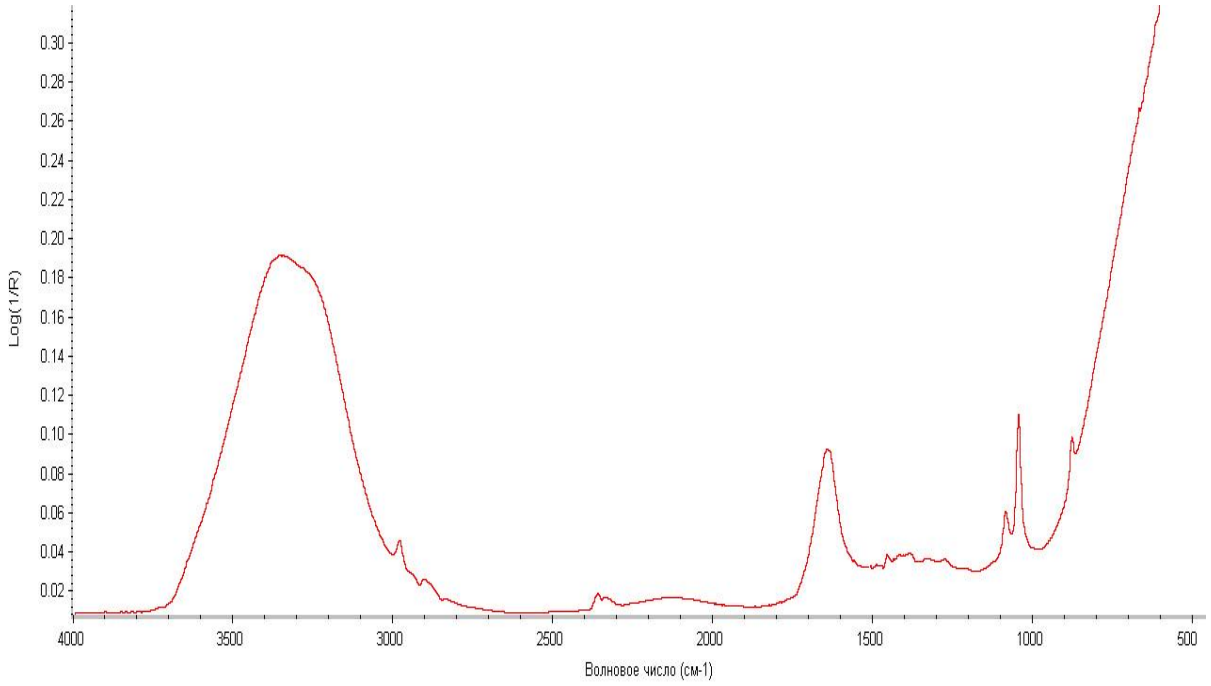


Рисунок 5.4 - ИК-спектр РСО сеннозида В

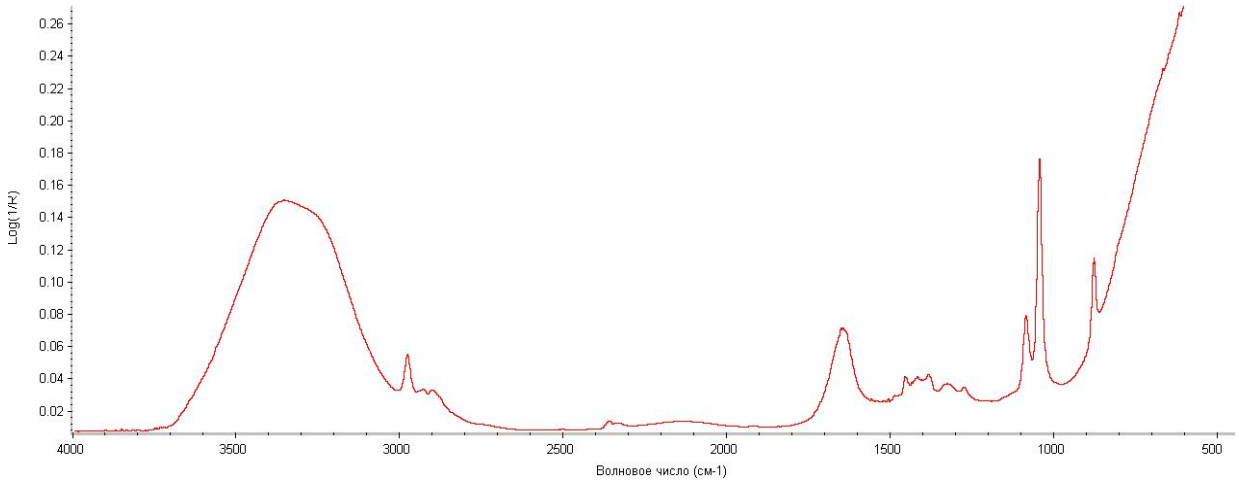


Рисунок 5.5 - ИК-спектр ИК-спектр водно-спиртового извлечения из листьев сенны александрийской

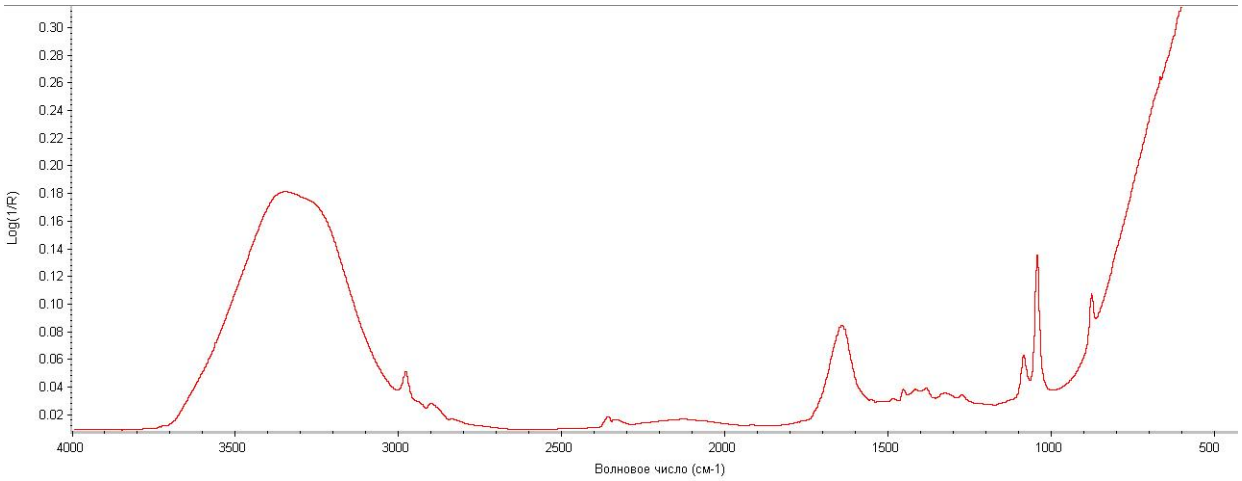


Рисунок 5.6 - ИК-спектр ИК-спектр водно-спиртового извлечения из плодов сенны александрийской

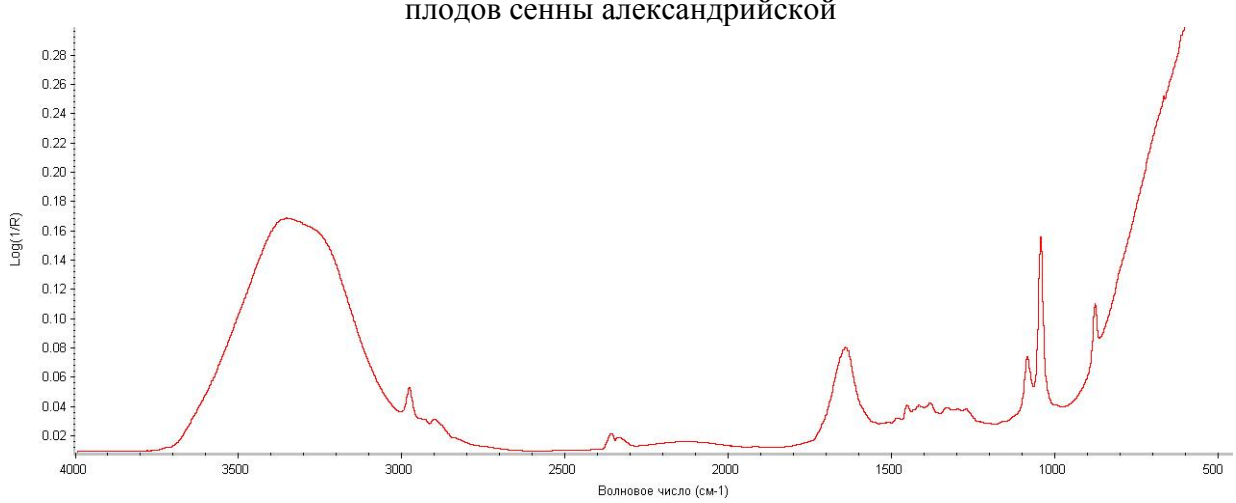


Рисунок 5.7 - ИК-спектр РСО руберитриновой кислоты

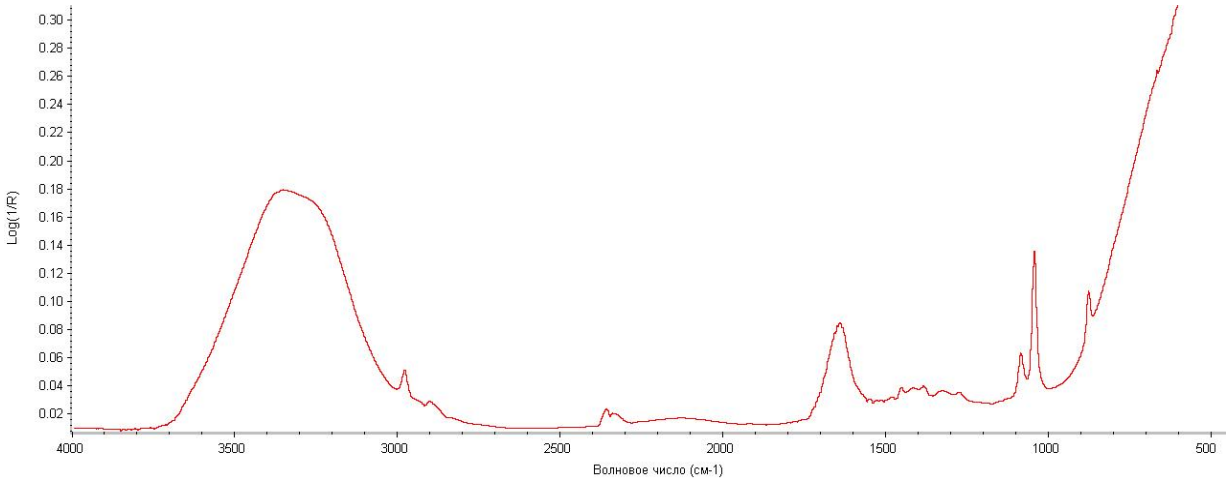


Рисунок 5.8 - ИК-спектр водно-спиртового извлечения из корней марены красильной

В результате проведенного исследования компонентного состава водно-спиртовых извлечений листьев, плодов сенны александрийской и корней марены

марены красильной методом ИК-спектроскопии установлено, что в случае листьев сенны александрийской диагностическое значение имеют антрагликозиды - неореин, а в плодах сенны александрийской – антрагликозид реин. В марене красильной доминирует антрагликозид – руберитриновая кислота. На наш взгляд, полученные результаты ИК-спектрометрии могут быть использованы для целей стандартизации сырья и препаратов исследуемых растений (раздел «Качественные реакции»).

5.1.3. Оценка перспективы использования высокоэффективной жидкостной хроматографии для анализа сырья фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные

Сравнительное качественное исследование компонентного состава водно-спиртовых извлечений из листьев, плодов сенны александрийской, корней марены красильной методом ВЭЖХ осуществляли с использованием веществ, выделенных из сырья данных растений, а именно: сеннозида В и руберитриновой кислоты, идентифицированные на основе данных ЯМР-, УФ-, ИК- и масс-спектров (глава 4).

Для анализа листьев, плодов сенны александрийской, корней марены красильной, сырье предварительно измельчили до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Из измельченного сырья делали извлечение по схеме:

Около 1 г (точная навеска) измельченного воздушно-сухого сырья, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл с притертой пробкой и прибавляют 50 мл 70% спирта этилового. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 90 мин. Затем содержимое колбы отстаивают 10 мин, фильтруют через бумажный фильтр с красной полосой в мерную колбу вместимостью 200 мл. Извлечение повторяют еще 2 раза вышеуказанным способом и после охлаждения фильтрата доводят объем раствора 70% спиртом до метки [312].

Полученное извлечение анализировали методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на хроматографе (колонка Себсил, «Jasco») в изократическом режиме

стационарная фаза – «Separon C-18», подвижная фаза – смесь ацетонитрила и воды в различных соотношениях с добавлением 1% ледяной уксусной кислоты, скорость потока – 0,1 мл/мин). Детекцию веществ проводили при длине волны 270 нм в целях выявления в анализируемых образцах компонентов фенольной природы. Экспериментальным путем были подобраны условия хроматографирования: на используемой хроматографической колонке при скорости потока – 0,1 мл/мин и температуре окружающей среды 20 °С соотношение элюентов ацетонитрила и воды составляет 2:8 с добавлением 1% ледяной уксусной кислоты, объем пробы, вводимый в хроматограф, при этом составляет 2 мкл.

Исследование показало, что доминирующим компонентом водно-спиртовых извлечений из плодов и листьев сенны александрийской является неореин (антрагликозид) (рис. 5.10, 5.11), время удерживания которого практически совпадает с таковым на хроматограмме неореина (рис. 5.9). В случае водно-спиртовых извлечения из корней марены красильной доминирует руберитриновая кислота (рис. 12), время удерживания которого практически совпадает с таковым на хроматограмме руберитриновой кислоты (рис. 5.13).

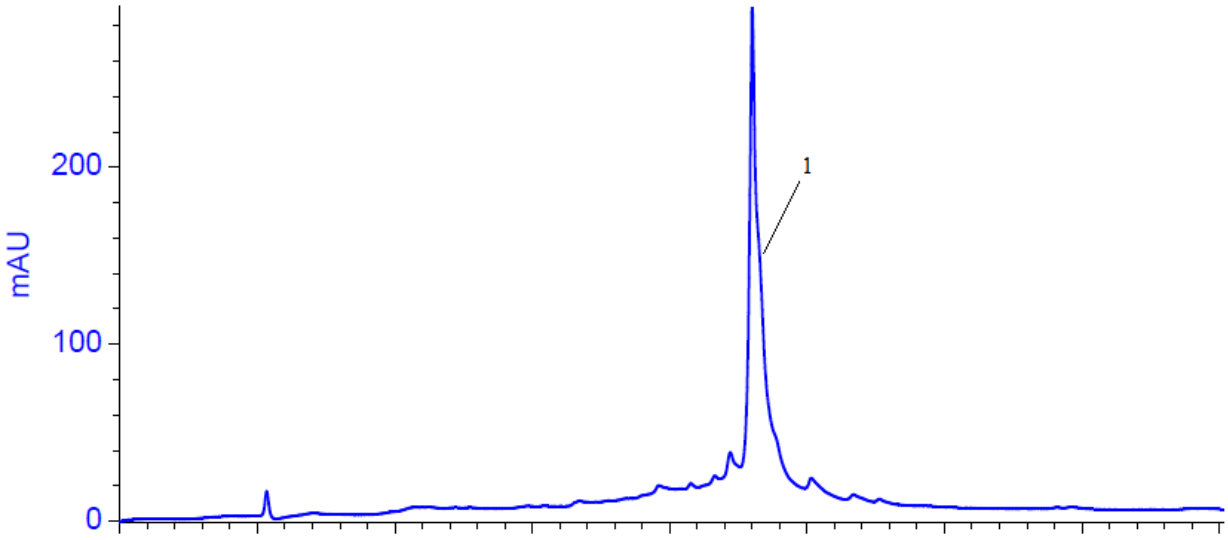


Рисунок 5.9 - Схема хроматограммы ВЭЖХ сеннозида В (пик 1) (длина волны 270 нм)

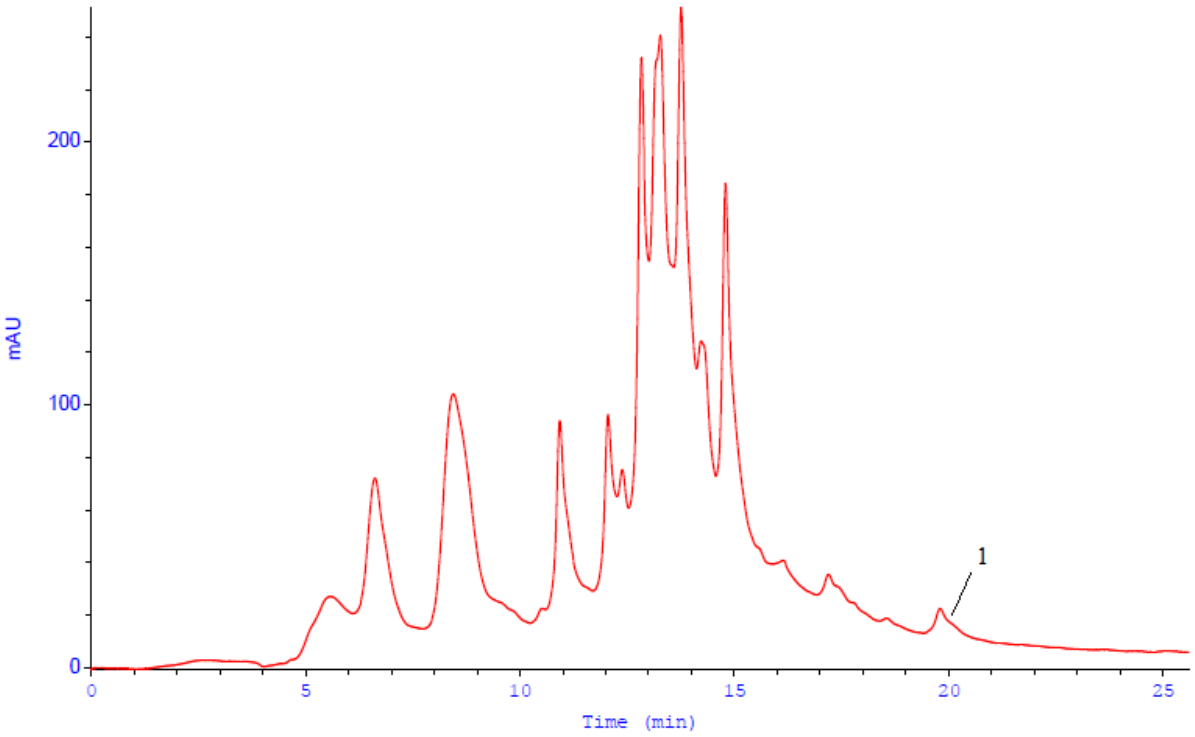


Рисунок 5.10 - Схема хроматограммы ВЭЖХ водно-спиртового извлечения из листьев сенны александрийской (длина волны - 270 нм)
Обозначения пиков веществ:1 – сеннозид В.

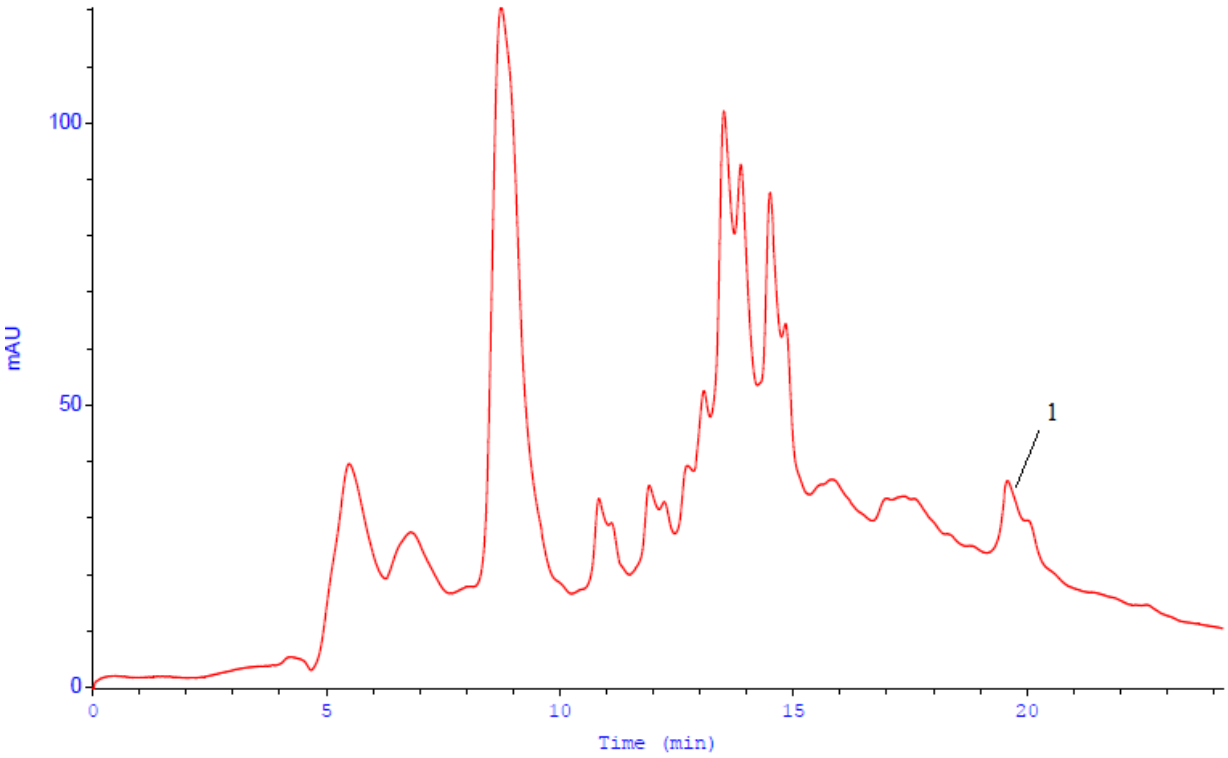


Рисунок 5.11 - Схема хроматограммы ВЭЖХ водно-спиртового извлечения из плодов сенны александрийской (длина волны - 270 нм)
Обозначения пиков веществ: 1 – сеннозид В.

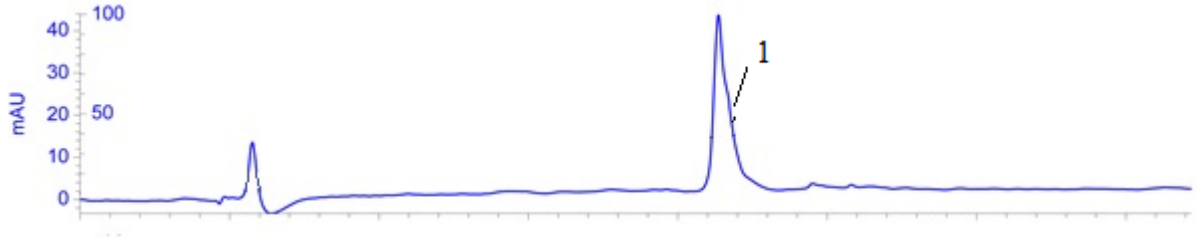


Рисунок 5.12 - Схема хроматограммы ВЭЖХ руберитриновой кислоты (пик 1) (длина волны 270 нм)

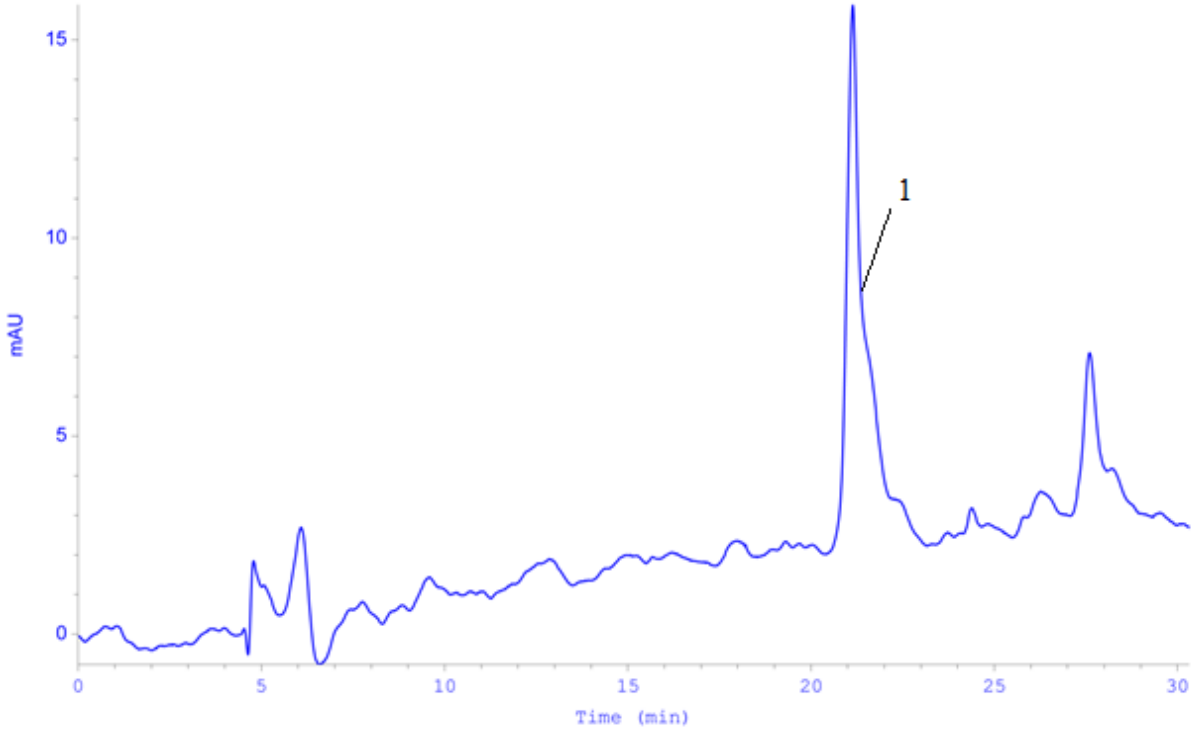


Рисунок 5.13 - Схема хроматограммы ВЭЖХ водно-спиртового извлечения из корней марены красильной (длина волны - 270 нм)
Обозначения пиков веществ: 1 – руберитриновая кислота.

На наш взгляд, полученные результаты свидетельствует о перспективности метода ВЭЖХ как для качественного, так и для количественного анализа сырья марены красильной. Исследование спектров показало, что в водно-спиртовом извлечении из корней марены красильной преобладающим антраценпроизводным является руберитриновая кислота.

Что же касается сырья сенны, метод ВЭЖХ возможно использовать исключительно в качественном анализе листьев и плодов сенны александрийской, так как содержание сеннозида В в сырье минимально.

5.1.4 Количественный анализ антраценпроизводных в листьях сенны александрийской

Для анализа листьев сенны александрийской нами была разработана методика определения суммы антраценпроизводных с использованием спектрофотометрии [146, 147, 211, 212].

Данная методика основана на реакции окрашивания с щелочно-аммиачным раствором с использованием спектрофотометрического метода определения оптической плотности полученных окрашенных растворов. Благодаря этому приему можно проводить спектрофотометрирование полученного окрашенного раствора непосредственно в извлечении из сырья, не применяя дополнительных стадий очистки [114, 115, 116, 137].

С целью разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных нами определены оптимальные условия экстракции антраценпроизводных в листьях сенны александрийской: экстрагент – спирт этиловый 70%; соотношение сырье: экстрагент – 1:30; время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане в течение 60 мин (табл. 5.3) [298].

Таблица 5.3 - Влияние различных факторов на полноту извлечения суммы антраценпроизводных из листьев сенны александрийской

Концентрация этилового спирта, %	Соотношение «сырье: Экстрагент»	Время экстракции, мин	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В и абсолютно сухое сырье, %
40	1:30	60	1,49± 0,02
50	1:30	60	1,50± 0,02
60	1:30	60	1,78± 0,03
60	1:50	60	1,86± 0,04
70	1:30	30	1,52± 0,02
70	1:30	45	1,62± 0,03

70	1:30	60	1,87± 0,02
70	1:30	90	1,81± 0,02
70	1:30	120	1,48± 0,02
70	1:50	60	1,88± 0,03
70	1:100	60	1,87± 0,04
80	1:30	60	1,70 ± 0,03
95	1:30	60	1,44± 0,02

В ходе разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных в листьях сенны александрийской изучены спектры поглощения водно-спиртовых извлечений из данного сырья. Регистрацию спектров проводили с помощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena) [298].

Интересным является то обстоятельство, что кривая поглощения раствора водно-спиртового извлечения из листьев сенны обусловлена в основном флавоноидами (максимумы поглощения около 270 нм и 350 нм) и коррелируют с таковым характеристиками кемпферол-3-О-гентиобиозида (рис. 5.14). Как отмечалось, исследование электронных спектров показало, что максимум поглощения щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из листьев сенны александрийской находится при длине волны 530±2 нм (рис. 5.15) [298]. В видимой области спектра щелочно-аммиачного раствора сеннозида В также наблюдается четкий максимум поглощения при 530±2 нм (рис. 5.15). Следовательно, за аналитическую длину волны можно принять значение 530 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид – сеннозид В. В случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано установленное в этих условиях значение удельного показателя поглощения вещества ($E^{1\%}_{1см}$) – 240 [298].

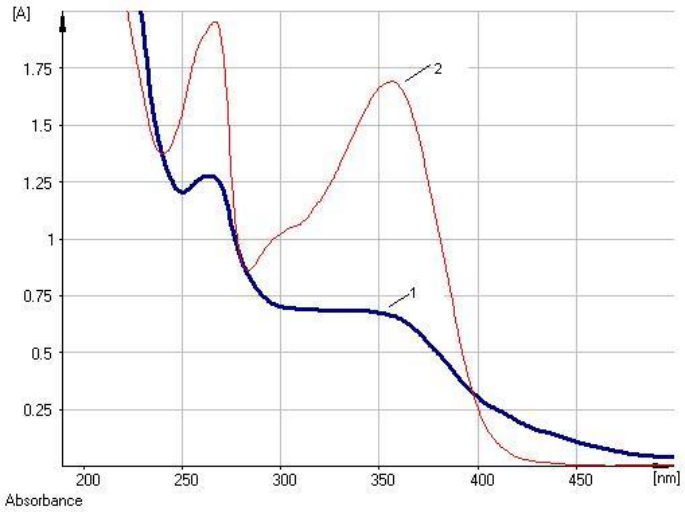


Рисунок 5.14 - Электронные спектры водно-спиртового извлечения из листьев кассии остролистной

Обозначения: 1 – исходный раствор водно-спиртового извлечения из листьев кассии остролистной; 2 – раствор 3-О-гентиобиозида кемпферола.

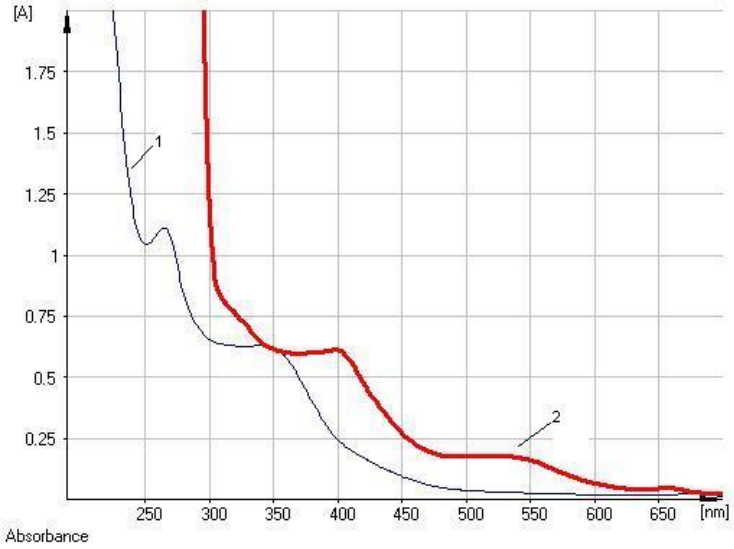


Рисунок 5.15 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из листьев кассии (2)

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в листьях сенны александрийской.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл 70% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных

весах с точностью до ±0,01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают, восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы и извлечение фильтруют [298].

Испытуемый раствор А готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным по фармакопейной методике [52]. Испытуемый раствор А помещают в колбу емкостью 25 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 530 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

Примечание: *Приготовление раствора сеннозида В - стандартного образца:* Около 0,02 (точная навеска) сеннозида В помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А сеннозид В). 1 мл раствора А сеннозида В помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 30 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 530 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [130, 298].

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В и абсолютно сухое сырье в процентах (Х) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * m_0 * 30 * 1 * 25 * 100 * 100}{D_0 * m * 30 * 1 * 25 * (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_o – оптическая плотность раствора РСО сеннозида В;

m – масса сырья, г;

m_o – масса ГСО сеннозида В, г;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

В случае отсутствия стандартного образца сеннозида В целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения – 240.

Содержание суммы антраценпроизводных в листьях сенны обыкновенной в пересчете на сеннозид В и абсолютно сухое сырье в процентах (Х) рассчитывают по формуле [130, 298]:

$$X = \frac{D * 25 * 30 * 100}{m * 240 * (100 - W)},$$

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса сырья, г;

240 - удельный показатель поглощения ($E^{1\%}_{1см}$) сеннозида В при 530 нм;

W – потеря в массе при высушивании, в процентах.

5.1.5 Количественный анализ антраценпроизводных в плодах сенны александрийской

В ходе разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных в плодах сенны александрийской изучены УФ-спектры растворов водно-спиртовых извлечений из плодов и стандартного раствора сеннозида В. Исследование УФ-спектров показало, что максимум поглощения щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из плодов сенны александрийской в длинноволновой области спектра находится при 530+2 нм (рис. 5.16). В длинноволновой области электронного спектра щелочно-аммиачного раствора сеннозида В также наблюдается четкий максимум поглощения при 530+2 нм (рис. 5.17). Следовательно, в качестве аналитической длины волны может быть использовано значение 530 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид – сеннозид В, причем в случае отсутствия стандарта

в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения (Е) – 240 [140].

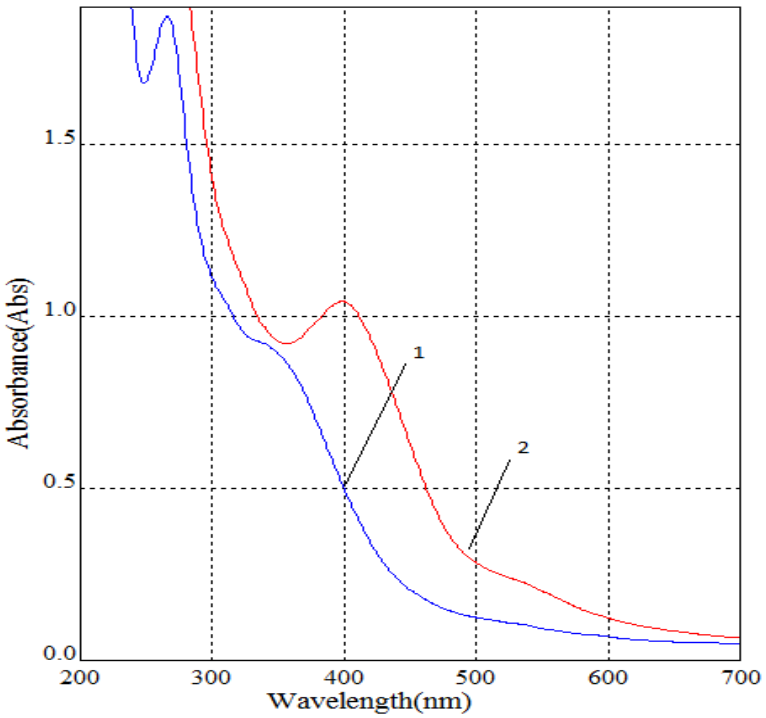


Рисунок 5.16 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из плодов сенны александрийской

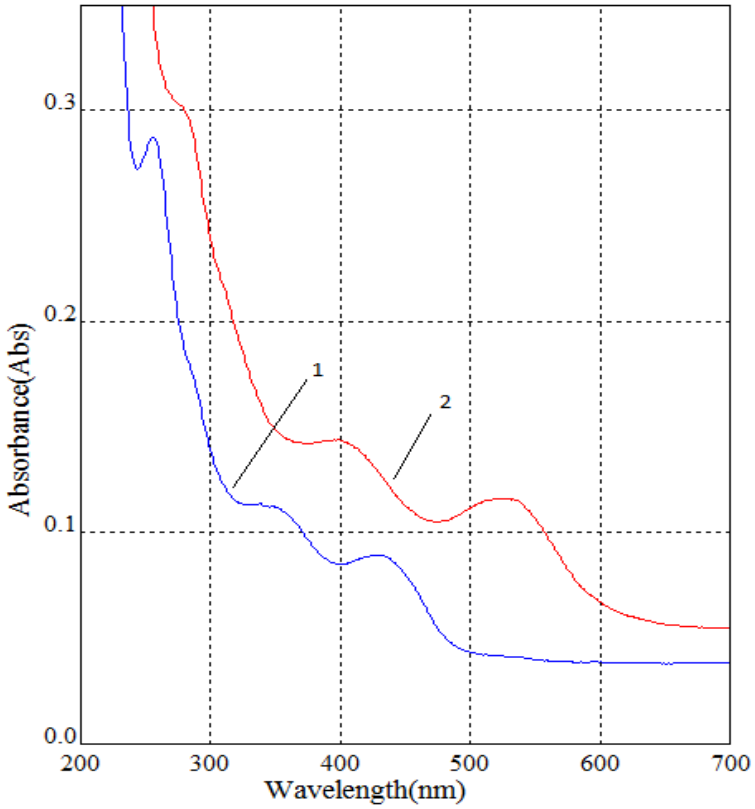


Рисунок 5.17 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора сеннозида В (2)

С целью разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных нами определены оптимальные условия экстракции антраценпроизводных из плодов сенны александрийской: экстрагент 40% этиловый спирт; соотношение «сырье-экстрагент» – 1:50; время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин (табл. 5.4) [140].

Таблица 5.4 - Влияние различных факторов на полноту извлечения суммы антраценпроизводных из плодов сенны александрийской

Концентрация экстрагента – этилового спирта, %	Соотношение сырье:экстра-гент	Время экстракции, мин	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В и абсолютно сухое сырье, %
20	1:50	90	1,01±0,02
30	1:50	90	1,19±0,03
40	1:50	90	1,39±0,03
50	1:50	90	0,91±0,03
60	1:50	90	0,82±0,02
70	1:50	90	1,02±0,03
80	1:50	90	0,90±0,03
95	1:50	90	0,43±0,01
40	1:50	30	0,78±0,01
40	1:50	60	1,04±0,03
40	1:50	120	1,03±0,02
40	1:30	90	0,98±0,02
40	1:100	90	1,44±0,04
40	1:200	90	1,45±0,04

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в плодах сенны александрийской.

Аналитическую пробу сбора измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сбора (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 40% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до ±0,01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса) и охлаждают в течение 30 мин. Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор А). Испытуемый раствор А помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 530 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [140].

Примечание: *Приготовление раствора сеннозида В-стандартного образца.* Около 0,02 г (точная навеска) сеннозида В помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А сеннозида В). 1 мл раствора А сеннозида В помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 530 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [140].

Содержание суммы антраценпроизводных в плодах сенны александрийской в пересчете на сеннозид В и абсолютно сухое сырье в процентах (*X*) вычисляют по формуле [140]:

$$X = \frac{D * m_0 * 50 * 1 * 25 * 100 * 100}{D_0 * m * 50 * 1 * 25 * (100 - W)},$$

где *D* – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_o – оптическая плотность раствора РСО сеннозида В;

m – масса сырья, г;

m_o – масса РСО сеннозида В, г;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

Упрощенная формула расчета как альтернатива [140]:

$$X = \frac{D * 50 * 25 * 100}{m * 240 * (100 - W)}$$

где *D* – оптическая плотность испытуемого раствора;

W – потеря в массе при высушивании в процентах;

240 – удельный показатель поглощения РСО сеннозида В.

5.1.6 Количественный анализ антраценпроизводных в корнях марены красильной

С целью разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных определены оптимальные условия экстракции антраценпроизводных в корнях марены красильной: экстрагент - 80% этиловый спирт; соотношение «сырье-экстрагент» – 1:30; время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане в течение 90 мин (табл. 5.5) [78, 80, 82, 194, 295, 322].

Таблица 5.5 - Влияние различных факторов на полноту извлечения суммы антраценпроизводных из корней марены красильной

Концентрация экстрагента – этилового спирта, %	Соотношение «сырье:экстра-гент»	Время экстракции, мин	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на руберитриновую кислоту и абсолютно сухое сырье, %

40%	1:50	90	2,28 ± 0,06
50%	1:50	90	2,85 ± 0,05
60%	1:50	90	3,09 ± 0,04
70%	1:50	90	2,72 ± 0,05
80%	1:50	90	3,23 ± 0,07
95%	1:50	90	1,52 ± 0,02
80%	1:50	30	2,71 ± 0,06
80%	1:50	45	2,41± 0,05
80%	1:50	60	2,76 ± 0,06
80%	1:50	90	3,20 ± 0,08
80%	1:50	120	2,80 ± 0,05
80%	1:30	90	4,85 + 0,06
80%	1:100	90	1,97 ± 0,03
80%	1:200	90	1,29 ± 0,02

В ходе разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях марены красильной изучены УФ-спектры водно-спиртовых извлечений из данного сырья. Регистрацию спектров проводили с помощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena) [322].

Исследование УФ-спектров показало, что максимум поглощения щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из корней марены красильной в длинноволновой области спектра находится при 520±2 нм (рис. 5.18). В длинноволновой области электронного спектра щелочно-аммиачного раствора руберитриновой кислоты также наблюдается четкий максимум поглощения при 520±2 нм (рис. 5.19). Следовательно, в качестве аналитической длины волны может быть использовано значение 520 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид – руберитриновая кислота, причем в

случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения ($E^{1\%}_{1см}$) – 520 [322].

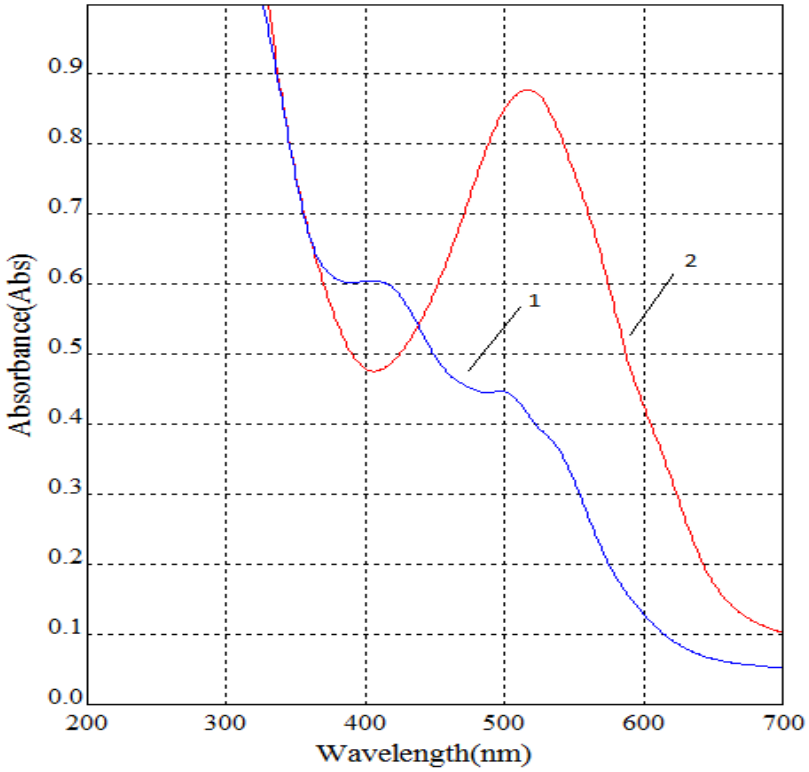


Рисунок 5.18 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из корней марены красильной

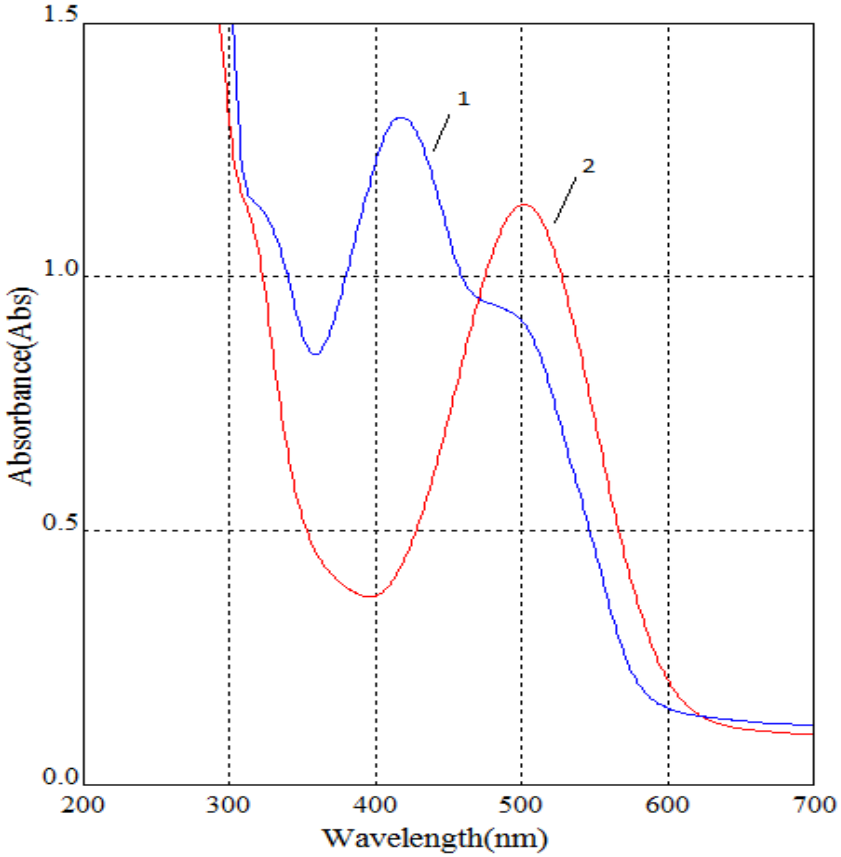


Рисунок 5.19 - Электронные спектры исходного раствора руберитриновой кислоты (1) и щелочно-аммиачного раствора руберитриновой кислоты (2)

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях марены красильной.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 40% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до ±0,01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса) и охлаждают в течение 30 мин. Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор А). Испытуемый раствор А помещают

в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 524 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [322].

Примечание: *Приготовление раствора руберитриновой кислоты стандартного образца.* Около 0,02 г (точная навеска) руберитриновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А руберитриновая кислота). 1 мл раствора А руберитриновой кислоты помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 520 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную. Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на руберитриновую кислоту и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле [322]:

$$X = \frac{D * m_0 * 50 * 1 * 50 * 100 * 100}{D_0 * m * 50 * 1 * 25 * (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

Do – оптическая плотность раствора РСО руберитриновой кислоты;

m – масса сырья, г;

mo – масса РСО руберитриновой кислоты, г;

W – потеря в массе при высушивании, в процентах.

Упрощенная формула расчета как альтернатива [322]:

$$X = \frac{D * 50 * 50 * 100}{m * 520 * (100 - W)}$$

520 – удельный показатель поглощения РСО руберитриновой кислоты.

5.1.7 Количественный анализ сборов, содержащих в составе кору крушины ломкой

Кора крушины ломкой входит в состав сборов: «Тростинка», «Проктофитол», «Lux», «Сибирская ласточка экстра», «Аэлит», «Фаворит», «Эффект», «Слабительный», «Для похудения». В связи с тем, что основным фармакологическим эффектом является слабительный и кора крушины в составе данных сборов доминирует, соответственно стандартизацию необходимо проводить по коре крушине ломкой [141, 143, 144, 245, 247, 248, 249, 250, 299].

С целью изучения УФ-спектров сборов использовали ранее разработанную методику количественного определения антраценпроизводных коры крушины ломкой (экстрагент – 40% этиловый спирт, соотношение «сырье – экстрагент» - 1:50, время экстракции – 90 мин) [131, 255].

Исследование электронных спектров показало, что электронные спектры сборов совпадают со спектрами извлечения из коры крушины, а максимум поглощения находится при 524+3 нм, что характерно и для щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из коры крушины ломкой (рис. 5.20-5.30). Следует отметить, что показательными для оценки подлинности являются дифференциальные спектры растворов (спектры испытуемых растворов на фоне раствора сравнения) [131, 152, 156, 255].

В длинноволновой области электронного спектра щелочно-аммиачного раствора франгулина А также наблюдается четкий максимум поглощения при 524+2 нм (рис. 5.21). Следовательно, в качестве аналитической длины волны может быть использовано значение 524 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид - франгулин А, причем в случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения (180) [131, 255].

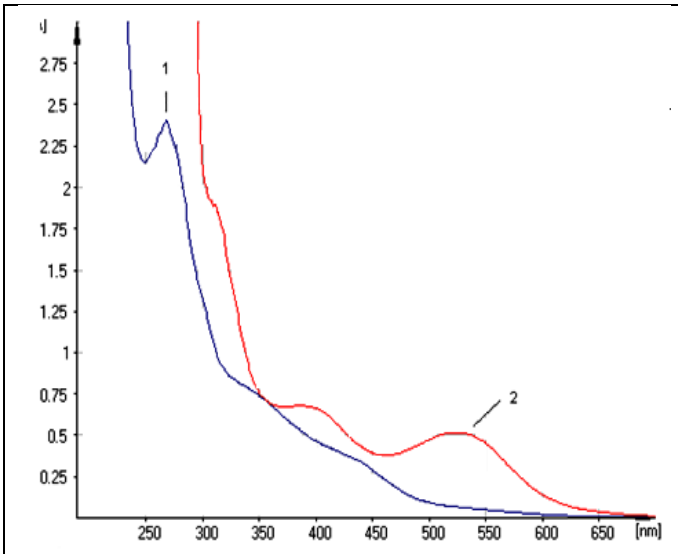


Рисунок 5.20 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щёлочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из коры крушины ломкой

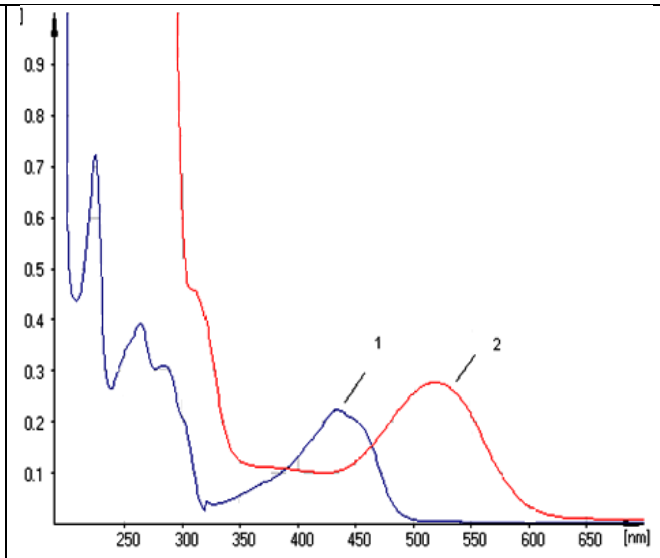


Рисунок 5.21 - Электронные спектры исходного раствора франгулина А (1) и щёлочно-аммиачного раствора франгулина А (2)

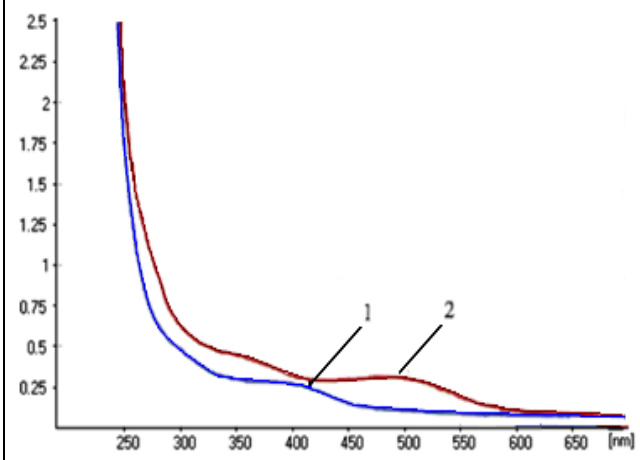


Рисунок 5.22 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щёлочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из сбора «Тростинка»

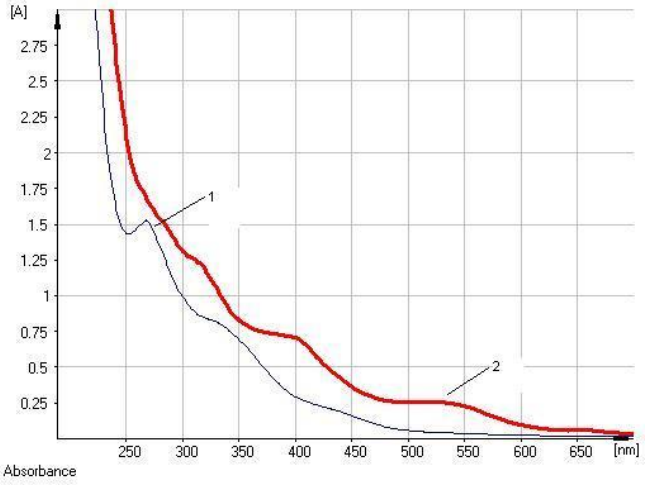
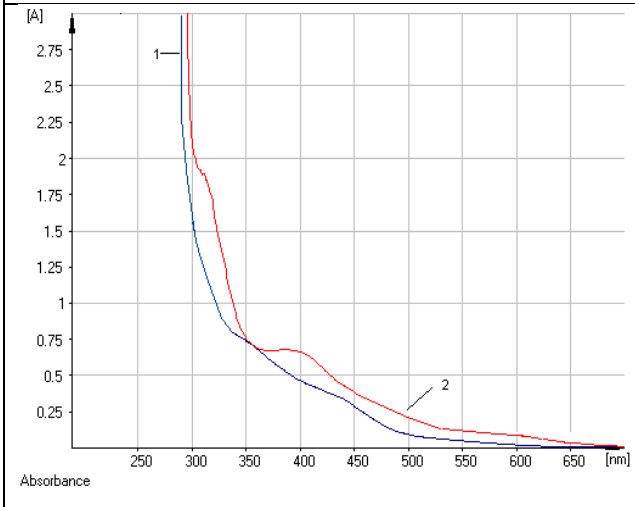


Рисунок 5.23 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из сбора «Проктофитол»



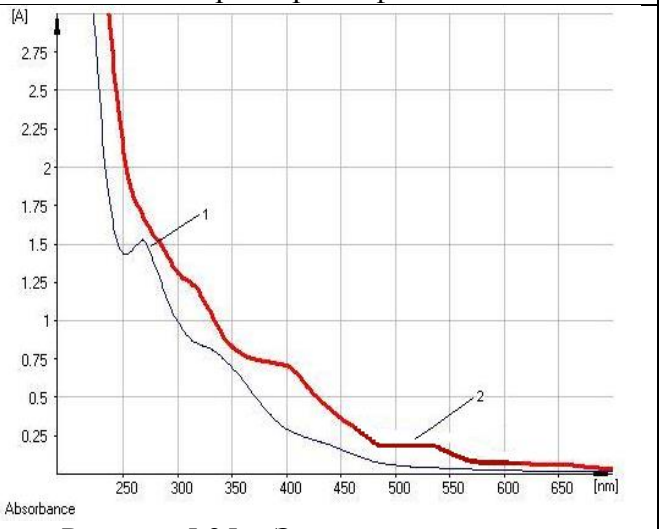


Рисунок 5.25 - Электронные спектры

Рисунок 5.24 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из сбора «Lux»

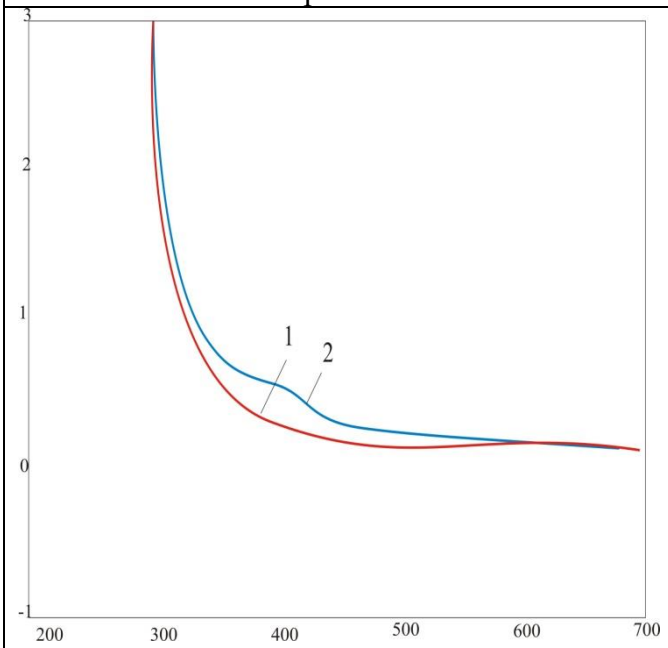


Рисунок 5.26 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из сбора «Аэлит»

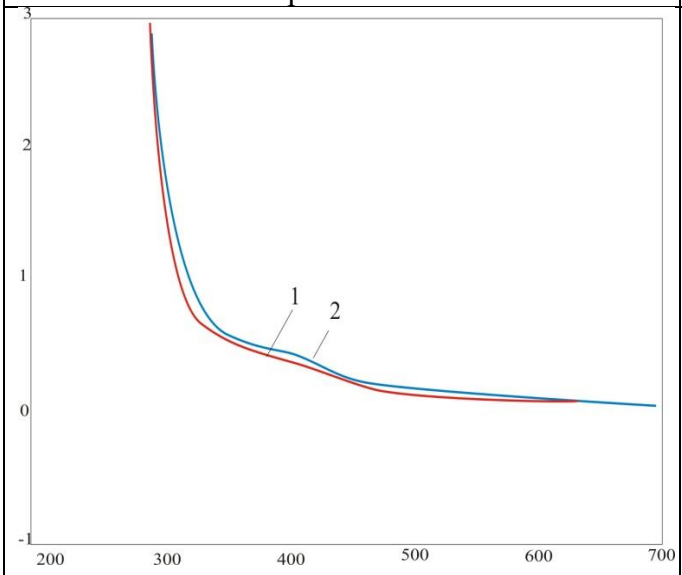


Рисунок 5.28 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из сбора «Эффект»

исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из сбора «Сибирская ласточка экстра»

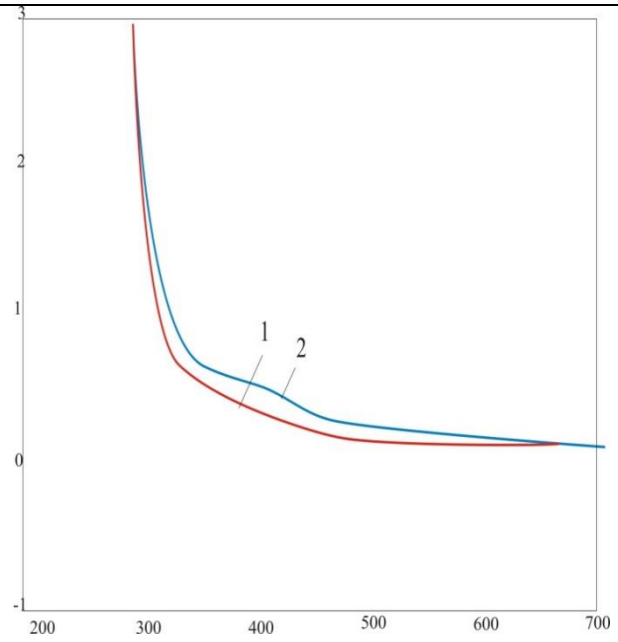


Рисунок 5.27 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из сбора «Фаворит»

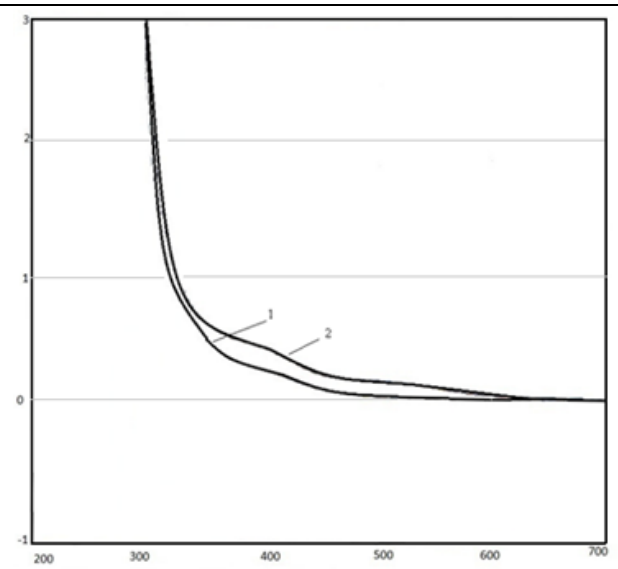


Рисунок 5.29 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из сбора «Слабительный»

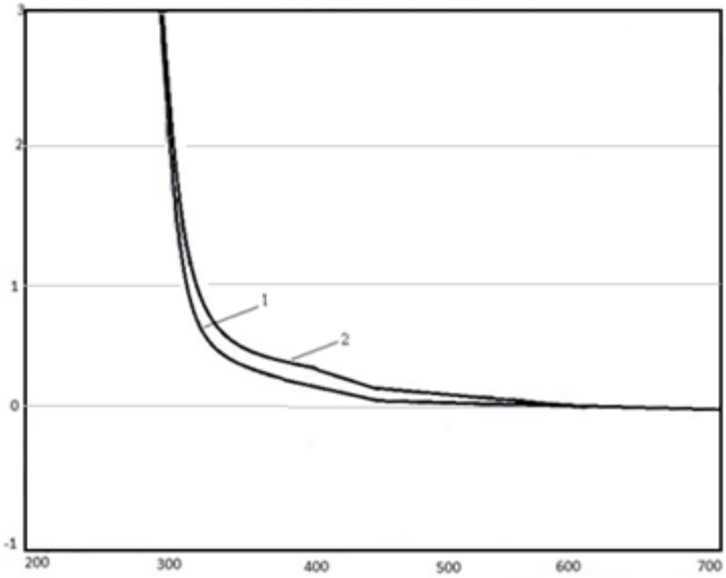


Рисунок 5.30 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из сбора «Для похудения»

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сборах, содержащих в составе кору крушины ломкой.

Аналитическую пробу сбора измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельчённого сбора (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 40% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до $\pm$0,01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса) и охлаждают в течение 30 мин. Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора до метки щёлочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор А). Испытуемый раствор А помещают в колбу ёмкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 524 нм. В качестве раствора

сравнения используют воду очищенную [141, 143, 144, 245, 247, 248, 249, 250, 299].

Содержание суммы антраценпроизводных в сборах, содержащих в составе кору крушины ломкой, в пересчёте на франгулин А и абсолютно сухое сырьё в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * 50 * 50 * 100}{m * 180 * (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

W – потеря в массе при высушивании в процентах;

180 – удельный показатель поглощения РСО франгулина А.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в сборах, содержащих в составе кору крушины ломкой, представлены в таблицах 5.6-5.14.

Результаты статистической обработки проведённых опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка» с доверительной вероятностью 95% составляет ±5,12 % (табл. 5.6) [143].

Таблица 5.6 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	5,00	0,1148	95	2,23	$\pm$0,2560	$\pm$5,12

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Тростинка» и при этом определено, что содержание суммы

антраценпроизводных варьирует от 4,50% до 5,00%, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого сбора содержание суммы антраценпроизводных не менее 4,50% [143].

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Проктофитол» с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,25 % (табл. 5.7) [141].

Таблица 5.7 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Проктофитол»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	3,84	0,0732	95	2,23	±0,163	±4,25

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Проктофитол» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 3,50% до 3,84%, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для сырья данного растения содержание суммы антраценпроизводных не менее 3,00% [141].

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Lux» с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,07 % (табл. 5.8) [144].

Таблица 5.8 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Lux»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	2,13	0,0732	95	2,23	±0,163	±4,07

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Lux» и при этом определено, что содержание суммы

антраценпроизводных варьирует от 2,00% до 2,13%, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого сбора содержание суммы антраценпроизводных не менее 2,00% [144].

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Сибирская ласточка экстра» с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,25 % (табл. 5.9) [299].

Таблица 5.9 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Сибирская ласточка экстра»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	3,63	0,0692	95	2,23	±0,154	±4,25

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора « Сибирская ласточка экстра» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 3,50% до 3,65%, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого сбора содержание суммы антраценпроизводных не менее 3,00% [299].

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Аэлит» с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,34 % (табл. 5.10) [247].

Таблица 5.10 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Аэлит»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	2,76	0,0539	95	2,23	±0,120	±4,34

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Аэлит» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 2,50% до 3,20%, что позволяет рекомендовать

в качестве нижнего предела для исследуемого сбора содержание суммы антраценпроизводных не менее 2,00% [247].

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Фаворит» с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,55 % (табл. 5.11) [250].

Таблица 5.11 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Фаворит»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	Δ*X*	*E, %*
10	2,81	0,0573	95	2,23	±0,1279	±4,55

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Фаворитт» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 2,50% до 3,30%, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого сбора содержание суммы антраценпроизводных не менее 2,00% [250].

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Эффект» с доверительной вероятностью 95% составляет ±3,90 % (табл. 5.12) [248].

Таблица 5.12 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Эффект»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	Δ*X*	*E, %*
10	3,13	0,0547	95%	2,23	±0,122	3,90%

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Эффект» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 2,80% до 3,50%, что позволяет рекомендовать

в качестве нижнего предела для исследуемого сбора содержание суммы антраценпроизводных не менее 2,50% [248].

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Слабительный» с доверительной вероятностью 95% составляет ±3,98 % (табл. 5.13) [245].

Таблица 5.13 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Слабительный»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	3,17	0,0566	95	2,23	± 0,1263	±3,98

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Слабительный» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 2,50% до 3,50%, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого сбора содержание суммы антраценпроизводных не менее 2,00% [245].

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Для похудения» с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,66 % (табл. 5.14) [245].

Таблица 5.14 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Для похудения»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	2,36	0,04939	95	2,23	± 0,1101	± 4,66

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Для похудения» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 2,50% до 3,50%, что позволяет рекомендовать

в качестве нижнего предела для исследуемого сбора содержание суммы антраценпроизводных не менее 2,00% [245].

5.1.8 Количественный анализ сборов, содержащих в составе плоды жостера слабительного

Плоды жостера слабительного входят в состав сборов: «Комфорт», «Для очищения организма». Основным фармакологическим эффектом данных сборов является слабительный, соответственно стандартизацию необходимо проводить по плодам жостера слабительного [142, 246].

С целью изучения УФ-спектров сборов использовали ранее разработанную методику количественного определения антраценпроизводных плодов жостера слабительного (экстрагент 40% этиловый спирт; соотношение «сырье-экстрагент» – 1:50; время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане в течение 60 мин) [152, 255].

Исследование электронных спектров показало, что электронные спектры сборов совпадают со спектрами извлечения из плодов жостера слабительного, а максимум поглощения находится при 524+3 нм, что характерно и для щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из плодов жостера слабительного (рис. 5.32). Следует отметить, что показательными для оценки подлинности являются дифференциальные спектры растворов (спектры испытуемых растворов на фоне раствора сравнения) (рис. 5.31-5.34) [152, 255].

В длинноволновой области электронного спектра щелочно-аммиачного раствора франгулина А также наблюдается четкий максимум поглощения при 524+2 нм (рис. 5.32). Следовательно, в качестве аналитической длины волны может быть использовано значение 524 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид - франгулин А, причем в случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения (180) [152, 255].

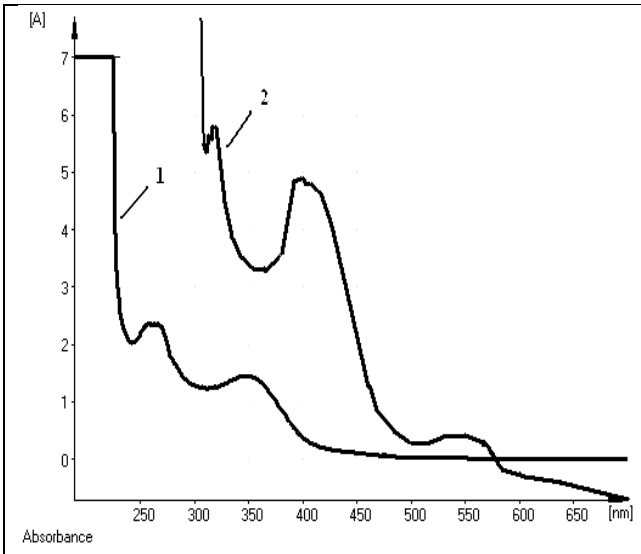


Рисунок 5.31 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щёлочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из плодов жостера слабительного

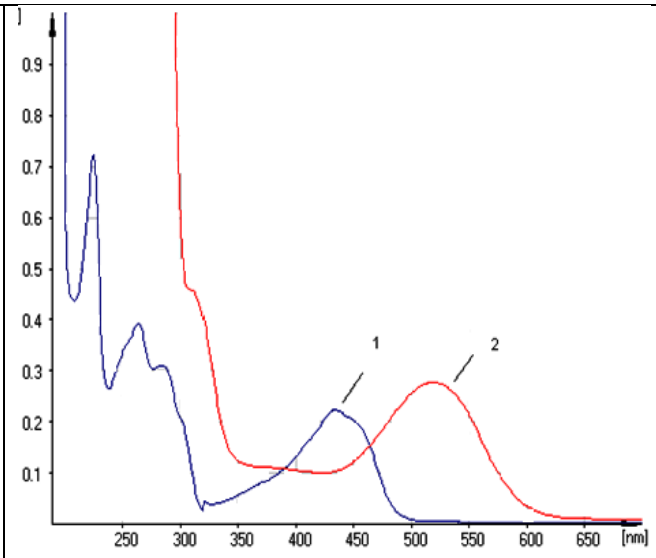


Рисунок 5.32 - Электронные спектры исходного раствора франгулина А (1) и щёлочно-аммиачного раствора франгулина А (2)

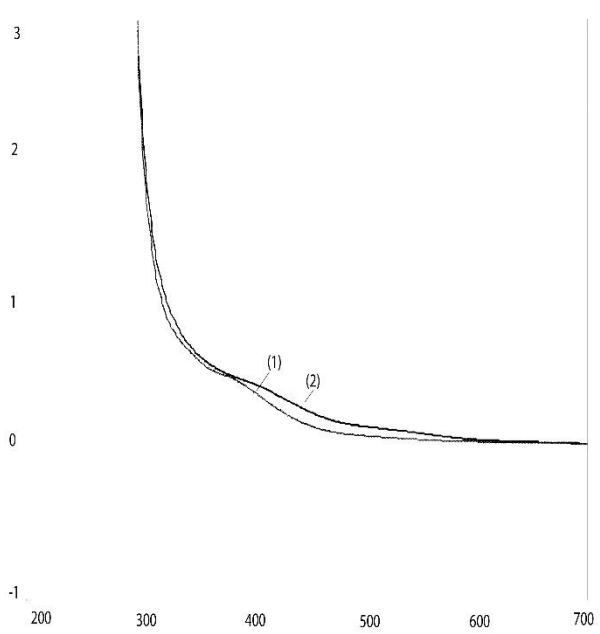


Рисунок 5.33 - Электронные спектры водного (1) и щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из сбора «Для очищения организма»(2)

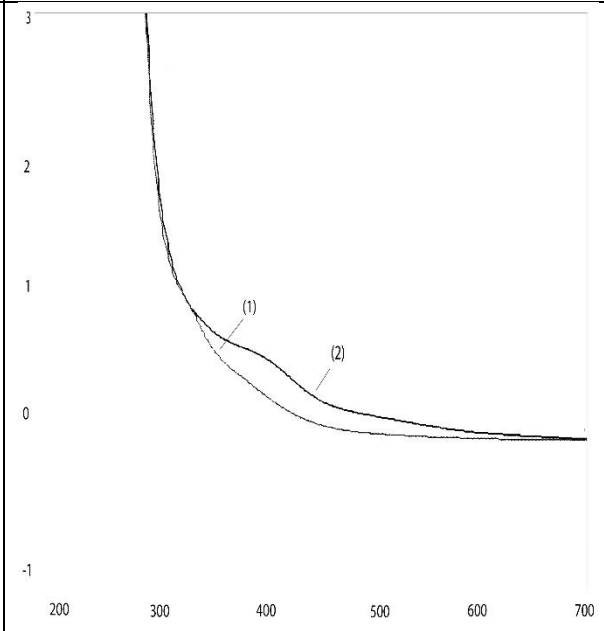


Рисунок 5.34 - Электронные спектры водного (1) и щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из сбора «Комфорт» (2)

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сборах, содержащих в составе плоды жостера слабительного.

Аналитическую пробу сбора измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельчённого сбора (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл

40% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до ±0,01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса) и охлаждают в течение 30 мин. Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора до метки щёлочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор А). Испытуемый раствор А помещают в колбу ёмкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 524 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [142, 152, 246, 255].

Содержание суммы антраценпроизводных в сборах, содержащих в составе кору крушины ломкой, в пересчёте на франгулин А и абсолютно сухое сырьё в процентах (Х) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * 50 * 50 * 100}{m * 180 * (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

W – потеря в массе при высушивании в процентах;

180 – удельный показатель поглощения РСО франгулина А.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в сборах, содержащих в составе кору крушины ломкой, представлены в таблицах 5.15-5.16.

Результаты статистической обработки проведённых опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе

«Для очищения организма» с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,8 % (табл. 5.15) [142].

Таблица 5.15 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Для очищения организма»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	2,39	0,0518	95	2,23	±0,1156	±4,80

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Для очищения организма» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 2,00% до 3,00%, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого сбора содержание суммы антраценпроизводных не менее 2,00% [143].

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Комфорт» с доверительной вероятностью 95% составляет ±3,35 % (табл. 5.16) [246].

Таблица 5.16 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Комфорт»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	3,19	0,0478	95	2,23	±0,1067	±3,35

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Комфорт» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 2,80% до 3,50%, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для сырья данного растения содержание суммы антраценпроизводных не менее 2,50% [246].

5.1.9 Количественный анализ лекарственных препаратов, содержащих в составе листья сены александрийской

Листья сенны александрийской входят в состав таких лекарственных препаратов как, «Сенаде» и «Сенадексин». Ранее с целью обоснования методических подходов к стандартизации листьев сенны александрийской проведено исследование по выделению веществ из сырья данного растения [298]. Было установлено, что доминирующими компонентами являются сеннозид В, причем было обосновано использование в методиках анализа листьев сенны александрийской сеннозида В в качестве стандартного вещества [298]. В ходе разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных изучены УФ-спектры лекарственных препаратов «Сенаде» и «Сенадексин» (рис. 5.37, 5.38), а так же растворов водно-спиртовых извлечений из листьев сенны александрийской, раствора сеннозида В [243, 244].

Исследование УФ спектров показало, что водно-спиртовое извлечение из листьев сенны александрийской в щелочно-аммиачной среде имеет максимум поглощения при аналитической длине волны 530 нм (рис. 5.35), что соответствует кривой поглощения водно-спиртового извлечения из лекарственного препарата «Сенаде» и «Сенадексин». В электронном спектре щелочно-аммиачного раствора сеннозида В максимум поглощения соответствует 530 нм, соответственно количественное содержание суммы антраценпроизводных необходимо рассчитывать при длине волны 530 нм. Стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид – сеннозид В (рис. 5.36), причем в случае отсутствия данного стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения ($E^{1\%}_{1см}$) – 240.

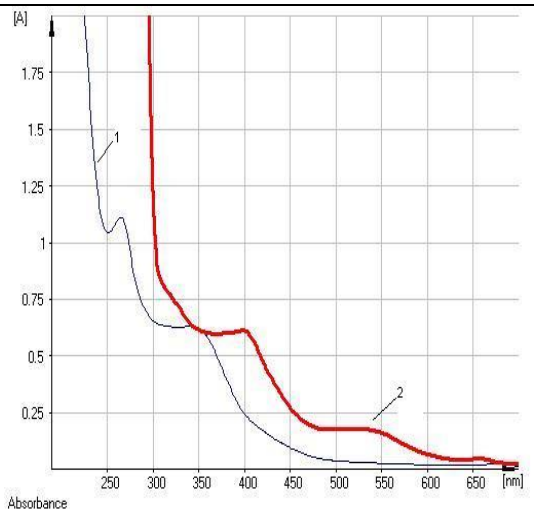


Рисунок 5.35 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из листьев кассии (2)

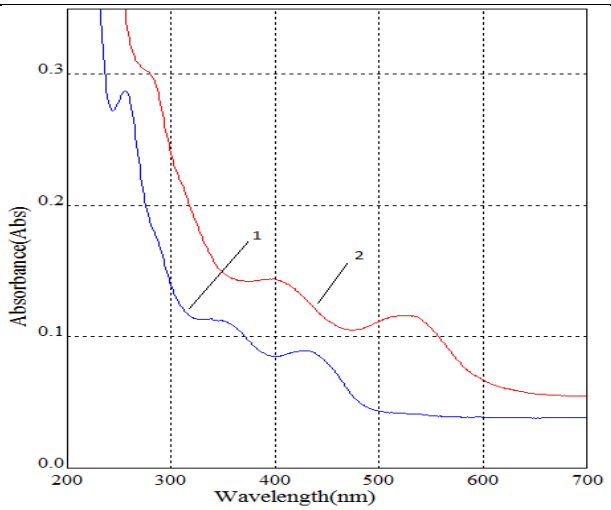


Рисунок 5.36 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора сеннозида В (2)

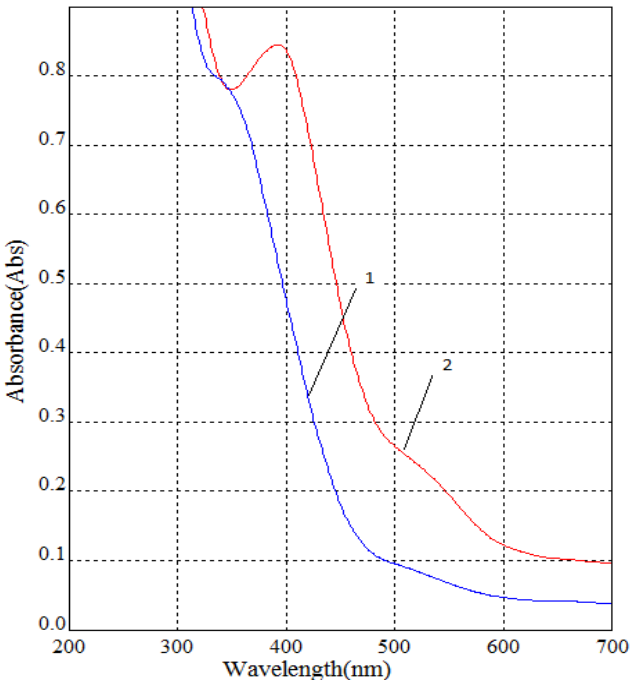


Рисунок 5.37 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора извлечений из таблеток «Сенаде» (2)

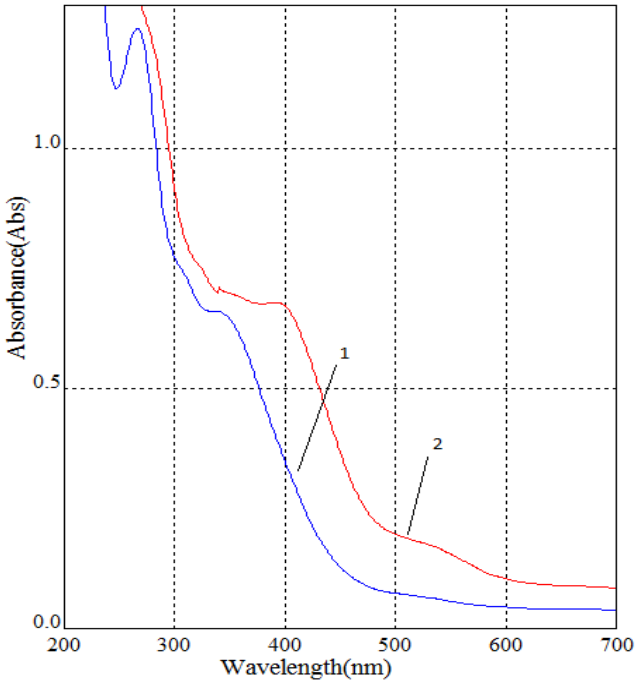


Рисунок 5.38 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора извлечений из таблеток «Сенадексин» (2)

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в лекарственных препаратах, содержащих в составе листья сенны александрийской.

Около 0,25 г (точная навеска) порошка растертых таблеток «Сенадексина» (0,2 г порошка растертых таблеток «Сенаде») помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, добавляют 15 мл 70% спирта этилового. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры раствор фильтруют через бумажный фильтр (марки «красная лента») в мерную колбу вместимостью 50 мл, избегая попадания порошка таблеток на фильтр. Процедуру повторяют дважды, каждый раз фильтруют извлечение в ту же мерную колбу через тот же фильтр. Затем доводят объем раствора до метки 70% спиртом и тщательно перемешивают (раствор А) [243, 244].

1,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным в соответствии с требованиями ГФ СССР XI издания [52], и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при аналитической длине волны 530 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [243, 244].

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В в одной таблетке в мг вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * 50 * 50 * P\tilde{n} * 1000}{m * 240 * 1 * 100},$$

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса навески растертых таблеток, г;

Pc – средняя масса одной таблетки.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в лекарственных препаратах,

содержащих в составе листья сенны александрийской, представлены в таблицах 5.17-5.18.

Результаты статистической обработки проведённых опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Сенаде» с доверительной вероятностью 95% составляет ±3,99 % (табл. 5.17) [243].

Таблица 5.17 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Сенаде»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	22,60	0,4049	95	2,23	$\pm$0,9031	$\pm$3,99

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Сенаде» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 22,00% до 23,00%, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого сбора содержание суммы антраценпроизводных не менее 21,50% [243].

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Сенадексин» с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm$4,30 % (табл. 5.18) [244].

Таблица 5.18 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Сенадексин»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	17,90	0,3493	95	2,23	$\pm$0,7790	$\pm$4,30

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Сенадексин» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 17,50% до 18,50%, что позволяет

рекомендовать в качестве нижнего предела для сырья данного растения содержание суммы антраценпроизводных не менее 17,00% [244].

5.1.10. Количественный анализ препарата «Крушины экстракт таблетки»

В связи с тем, что кора крушины в данном препарате является основным действующим веществом, соответственно стандартизацию необходимо проводить по коре крушине ломкой [245].

С целью изучения УФ-спектров сборов использовали ранее разработанную методику количественного определения антраценпроизводных коры крушины ломкой (экстрагент – 40% этиловый спирт, соотношение «сырье – экстрагент» - 1:50, время экстракции – 90 мин) [131, 255].

Исследование электронных спектров показало, что электронные спектры сборов совпадают со спектрами извлечения из коры крушины, а максимум поглощения находится при 524+3 нм, что характерно и для щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из коры крушины ломкой (рис. 5.20, 5.39). Следует отметить, что показательными для оценки подлинности являются дифференциальные спектры растворов (спектры испытуемых растворов на фоне раствора сравнения) [131, 133, 152, 156, 255].

В длинноволновой области электронного спектра щелочно-аммиачного раствора франгулина А также наблюдается четкий максимум поглощения при 524+2 нм (рис. 5.21). Следовательно, в качестве аналитической длины волны может быть использовано значение 524 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид - франгулин А, причем в случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения (180) [133].

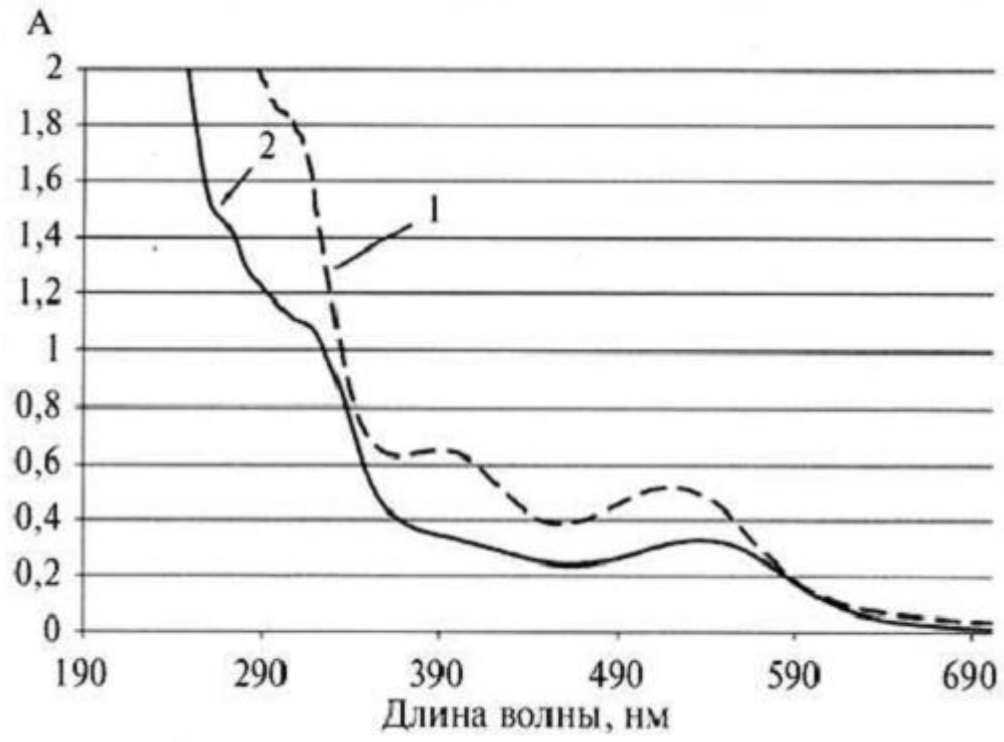


Рисунок 3.39 Электронные спектры щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из коры крушины ломкой(1) и щелочно-аммиачного раствора извлечений из таблеток экстракта крушины (2)

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в препарате «Крушины экстракт таблетки».

Около 0,8 г (точная навеска) порошка растертых таблеток экстракта крушины помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, добавляют 15 мл 40% спирта этилового. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры раствор фильтруют через бумажный фильтр (марки «красная лента») в мерную колбу вместимостью 50 мл, избегая попадания порошка таблеток на фильтр. Процедуру повторяют дважды, каждый раз фильтруют извлечение в ту же мерную колбу через тот же фильтр. Затем доводят объем раствора до метки 40% спиртом и тщательно перемешивают (раствор А) [133].

1,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным в соответствии с требованиями ГФ СССР XI издания [52], и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения измеряют оптическую

плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при аналитической длине волны 524 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [133].

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В в одной таблетке в мг вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * 50 * 50 * Pc * 1000}{m * 180 * 1 * 100},$$

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса навески растертых таблеток, г;

Pc – средняя масса одной таблетки;

180 - удельный показатель поглощения РСО франгулина А.

Результаты статистической обработки проведённых опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в препарате «Крушины экстракт таблетки» с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,01 % (табл. 5.19) [133].

Таблица 5.19 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в препарате «Крушины экстракт таблетки»

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	ΔX	*E, %*
10	21,22	1,2642	95	2,23	$\pm$0,85	$\pm$4,01

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов препарата «Крушины экстракт таблетки» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 16,85 до 23,21 мг, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого препарата содержание суммы антраценпроизводных не менее 15,00 мг [133].

5.2 Валидационные характеристики методики спектрофотометрического определения антраценпроизводных

Валидационные характеристики методики спектрофотометрического определения антраценпроизводных нами были определены по следующим показателям: линейности, прецизионности (повторяемости, внутрилабораторной прецизионности, межлабораторной прецизионности), правильности.

Определение линейности проводили на 5 уровнях концентраций от теоретического содержания суммы антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В и руберитриновую кислоту в исследуемых объектах (табл.5.20-5.22, рис.5.40-5.42). Растворы готовили путем разбавления аликвоты и увеличения аликвоты для измерения количественного содержания суммы антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В и руберитриновую кислоту в растворах, имеющих концентрацию 50, 75, 100, 125 и 150%. Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции. Если его величина близка к единице, то совокупность данных можно описать прямой линией. Величина коэффициента корреляции должна быть не ниже 0,99.

Таблица 5.20 - Определение линейности методики

№ измерения	Аликвота, %	Аликвота, мл	Оптическая плотность, D	Содержание антраценпроизводных в аликвоте, С, %
Листья сенны александрийской				
1	50	0,5	0,138	0,95
2	75	0,75	0,181	1,42
3	100	1	0,23	1,88
4	125	1,25	0,277	2,34
5	150	1,5	0,330	2,81
Плоды сенны александрийской				
1	50	0,5	0,175	0,71
2	75	0,75	0,22	1,09

3	100	1	0,26	1,39
4	125	1,25	0,30	1,65
5	150	1,5	0,335	1,98
Корни марены красильной				
1.	50	0,5	0,41	2,49
2.	75	0,75	0,64	3,7
3.	100	1	0,88	4,85
4.	125	1,25	1,1	6,0
5.	150	1,5	1,34	7,24

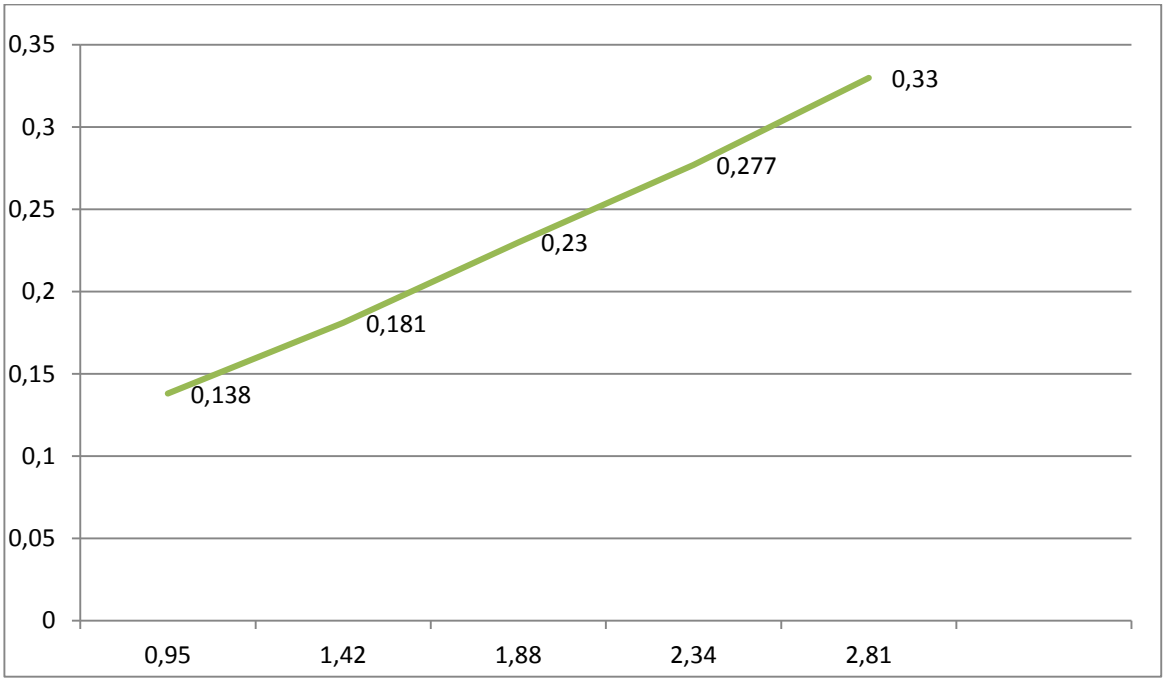


Рисунок 5.40 - График зависимости оптической плотности извлечения из листьев сенны алекесандрийской от концентрации

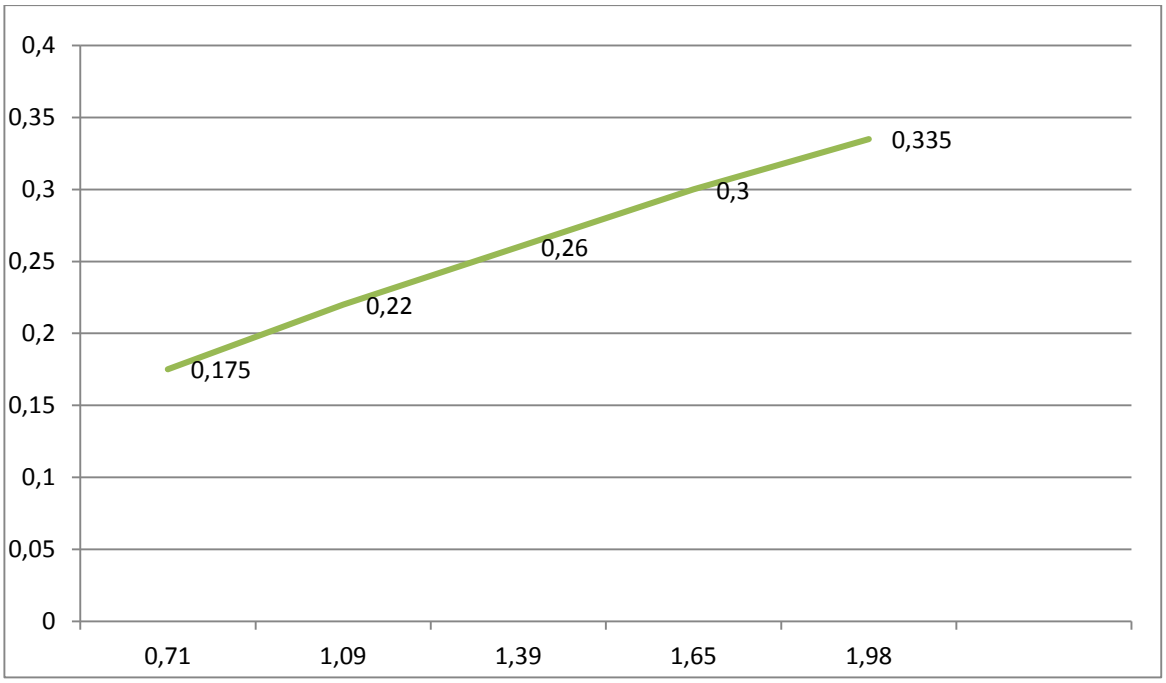


Рисунок 5.41 - График зависимости оптической плотности извлечения из плодов сенны алексанрийской от концентрации

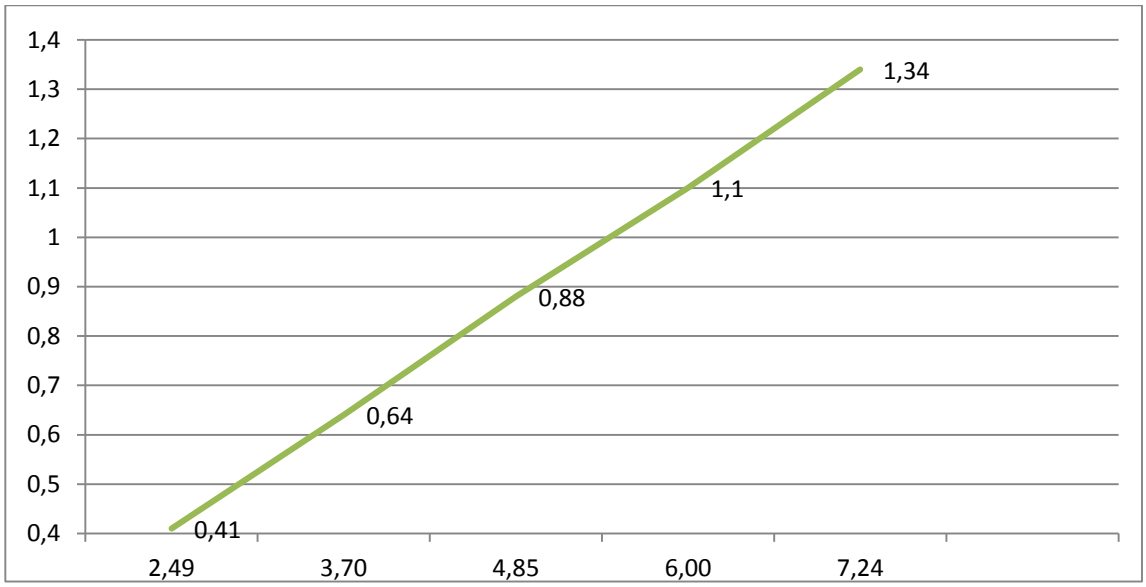


Рисунок 5.42 - График зависимости оптической плотности извлечения из корней марены красильной от концентрации

Данные для расчета коэффициента корреляции представлены в таблицах 5.21 и 5.22.

Таблица 5.21 - Данные для расчета коэффициента корреляции

D	**C**	**DC**	**D^2**	**C^2**
Листья сенны александрийской				
0,138	0,95	0,131	0,019	0,902

0,181	1,42	0,257	0,033	2,016
0,23	1,88	0,432	0,053	3,534
0,277	2,34	0,648	0,076	5,475
0,330	2,81	0,927	0,108	7,896
ΣD=1,156	ΣC=9,4	ΣDC=2,395	ΣD^2=0,289	ΣC^2=19,823
Плоды сенны александрийской				
0,175	0,71	0,1242	0,0306	0,5141
0,22	1,09	0,2398	0,0484	1,1881
0,26	1,39	0,3614	0,0676	1,9321
0,30	1,65	0,495	0,09	2,7225
0,335	1,98	0,6633	0,11222	3,9204
ΣD=1,29	ΣC=6,82	ΣDC=1,8837	ΣD^2=0,3488	ΣC^2=10,2772
Корни марены красильной				
0,41	2,49	1,0209	0,1681	6,2001
0,64	3,7	2,368	0,4096	13,69
0,88	4,85	4,268	0,7744	23,5225
1,1	6,0	6,6	1,21	36
1,34	7,24	9,7016	1,7956	52,4176
ΣD=4,37	ΣC=24,28	ΣDC=23,958	ΣD^2=4,357	ΣC^2=108,307

Коэффициенты корреляции для исследуемых объектов составили более 0,99 (табл. 5.22). Следовательно, можно сказать, что методика является линейной.

Таблица 5.22 - Расчет коэффициента корреляции

Объекты исследования	SSx = $\Sigma D^2 - (\Sigma D)^2/5$	SSy = $\Sigma C^2 - (\Sigma C)^2/5$	SPxy = $\Sigma DC-(\Sigma D \cdot \Sigma C)/5$	r = SPxy / $\sqrt{SSx \cdot SSy}$
Листья сенны александрийской	0,21	13,707	1,694	0,99

Плоды сенны александрийской	0,263	7,247	1,382	0,996
Корни марены красильной	2,947	96,242	16,429	0,975

где SSx - сумма квадратов отклонения баллов (D) испытуемых от среднего арифметического;

SSy - сумма квадратов отклонения баллов (C) испытуемых от среднего арифметического;

SPxy - сумма попарных произведений;

r - коэффициент корреляции.

Для определения повторяемости методики брали один образец сырья и проводили исследование в 11 повторностях. Определяли величину относительного стандартного отклонения, которая не должна превышать 10%. Для листьев сенны александрийской эта величина составила 3,27% (таблица 5.23), для плодов сенны александрийской – 4,24% (таблица 5.24), для корневищ с корнями марены красильной -3,18% (таблица 5.25).

Таблица 5.23 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в листьях сенны александрийской

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	*ΔX*	*E, %*
10	1,88	0,0276	95	2,23	±0,061	±3,27

Таблица 5.24 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в плодах сенны александрийской

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	*ΔX*	*E, %*
10	1,44	0,0276	95	2,23	±0,061	±4,24

Таблица 5.25 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях марены красильной

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	*ΔX*	*E, %*
10	4,85	0,0692	95	2,23	±0,154	±3,18

Для определения внутрилабораторной прецизионности методики брали 3 образца сырья и исследовали в трех повторностях двумя исследователями (таблица 5.26-5.28). Определяли величину относительного стандартного отклонения, которая не должна превышать 15%.

Таблица 5.26 – Результаты определения внутрилабораторной прецизионности разработанной методики для листьев сенны александрийской

Повторность	Содержание антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В в листьях сенны александрийской, %			
		Сырье 1	Сырье 2	Сырье 3
1	Аналитик 1	1,89	1,78	1,82
2		1,85	1,76	1,79
3		1,86	1,81	1,83
4	Аналитик 2	1,84	1,83	1,87
5		1,88	1,82	1,84
6		1,9	1,79	1,83
Среднее значение		1,87	1,80	1,83
Относительное стандартное отклонение (%)		±3,26	±3,9	±3,53

Таблица 5.27 – Результаты определения внутрилабораторной прецизионности разработанной методики для плодов сенны александрийской

Повторность	Содержание антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В в плодах сенны александрийской, %			
		Сырье 1	Сырье 2	Сырье 3
1	Аналитик 1	1,42	1,39	1,41
2		1,43	1,42	1,40
3		1,44	1,41	1,41
4	Аналитик 2	1,45	1,38	1,43
5		1,46	1,37	1,43
6		1,44	1,41	1,42
Среднее значение		1,44	1,40	1,42

Относительное стандартное отклонение (%)	±4,24	±3,95	±4,10

Таблица 5.28 – Результаты определения внутрилабораторной прецизионности разработанной методики для корней марены красильной

Повторность	Содержание антраценпроизводных в пересчете на руберитриновую кислоту в корнях марены красильной, %			
		Сырье 1	Сырье 2	Сырье 3
1	Аналитик 1	4,82	4,98	4,39
2		4,84	4,72	4,60
3		4,82	4,82	4,45
4	Аналитик 2	4,87	4,71	4,41
5		4,86	4,62	4,35
6		4,88	4,58	4,20
Среднее значение		4,85	4,70	4,40
Относительное стандартное отклонение (%)		±3,18	±3,90	±3,57

Проведенные нами исследования показали, что относительное стандартное отклонение не превышает 15%, что свидетельствует о том, что разработанные методика воспроизводима в указанных условиях.

Для определения межлабораторной прецизионности методики определяли количественное содержание образцов сырья на трех спектрофотометрах Specord 40 (Analytik Jena), СФ-2000, UNICO 2800 (таблица 5.29). Определяли величину относительного стандартного отклонения, которая не должна превышать 15%.

Таблица 5.29 – Результаты определения межлабораторной прецизионности разработанной методики для листьев, плодов сенны александрийской и корней марены красильной

Анализируемое лекарственное растительное сырье	Содержание антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В (листья и плоды сенны александрийской) и руберитриновую кислоту (корни марены красильной), %			Относительное стандартное отклонение (%)
	Спектрофотометр - Specord 40 (Analytik Jena)	Спектрофотометр - СФ-2000	Спектрофотометр - UNICO 2800	

Листья сенны александрийской	1,90	1,73	1,88	±3,53
Плоды сенны александрийской	1,45	1,35	1,44	±4,21
Корни марены красильной	4,83	4,80	4,85	±3,22

При определении правильности методики устанавливали содержание антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В и руберитриновую кислоту в извлечениях, полученных при добавлении определенного количества 0,25 мл, 0,50 мл, 0,75 мл рабочего стандартного раствора (сеннозида В, руберитриновой кислоты) к полученному нами извлечению для получения различных концентраций. Критерием приемлемости методики является величина среднего процента восстановления при применении растворов определенных концентраций, скорректированная на 100%. Средняя величина критерия приемлемости определяется рамками 100±5%.

Таблица 5.30 – Результаты определения правильности методики (эксперименты с добавками сеннозида В)

№	Содержание антрацен-производных мг, в пересчете на сеннозид В	Добавлено РСО сенно-зида В, мг	Ожидаемое содержа-ние, мг	Получен-ное содержа-ние, мг	Получен-ная ошибка, %	Статистические характеристики
1	1,88	0,125	2,01	2,003	102,16	$\overline{x}$ = 100,83 %
2	1,88	0,125	2,01	2,005	103,36	*S = 1*,81945
3	1,88	0,125	2,01	2,019	101	ΔX = 4,057
4	1,88	0,250	2,13	2,135	98,5	E = 4,02%
5	1,88	0,250	2,13	2,139	99,7	
6	1,88	0,250	2,13	2,128	100,86	
7	1,88	0,375	2,26	2,268	101,9	
8	1,88	0,375	2,26	2,259	99,96	

9	1,88	0,375	2,26	2,255	100,1	
Средняя ошибка 100,83 %						

Проведенные исследования показали, что процент восстановления в разработанной методике варьирует от 98,50% до 103,36%, при этом средняя величина его составила 100,83%.

Как видно из данных, приведенных в таблице 14, в разработанной методике отсутствует систематическая ошибка, относительная ошибка при доверительной вероятности 95% не превышает ±4,02% (табл. 5.30).

Таблица 5.31 – Результаты определения правильности методики (эксперименты с добавками руберитриновой кислоты)

№	Содержание антрацен-производных мг, в пересчете на руберит-риновую кислоту	Добавле-но РСО руберит-ринову ю кислоту, мг	Ожидаемое содержа-ние, мг	Получен-ное содержа-ние, мг	Получен-ная ошибка, %	Статистические характеристики
1	4,85	0,125	4,975	4,968	99,53	$\overline{x}$ = 100,67 %
2	4,85	0,125	4,975	4,97	101,7	*S = 1*,8099
3	4,85	0,125	4,975	4,978	98,5	ΔX = 4,036
4	4,85	0,250	5,1	5,11	103,4	E = 4,0%
5	4,85	0,250	5,1	5,092	100,2	
6	4,85	0,250	5,1	5,125	98,9	
7	4,85	0,375	5,225	5,216	100,37	
8	4,85	0,375	5,225	5,221	102,4	
9	4,85	0,375	5,225	5,234	101,8	
Средняя ошибка 100,67 %						

Проведенные исследования показали, что процент восстановления в разработанной методике варьирует от 98,50% до 103,4%, при этом средняя величина его составила 100,67%

Как видно из данных, приведенных в таблице 15, в разработанной методике отсутствует систематическая ошибка, относительная ошибка при доверительной вероятности 95% не превышает ±4,00% (табл. 5.31).

Результаты проведенных исследований позволили установить, что разработанные спектрофотометрические методики определения суммы антрпаценпроизводных в фармакопейных растениях достаточно воспроизводимы, линейны в исследуемом диапазоне концентраций, непродолжительны по времени выполнения, доступны, для их выполнения не требуется дорогостоящих реактивов.

С использованием разработанной методики проанализирован ряд промышленных образцов листьев сенны и показано, что содержание суммы антраценпроизводных в образцах сырья варьирует в пределах от 1,21% до 1,88% (в пересчете на сеннозид В) (табл. 5.32) [263].

Таблица 5.32 – Содержание суммы антраценпроизводных в различных образцах сырья сенны александрийской

№ п/п	Характеристика образца сырья	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на абсолютно сухое сырье и сеннозид В, %
1.	Сенны листья в фильтр-пакетах (ОАО «Красногорсклексредства»)	1,56± 0,02
2.	Сенны листья (ОАО «Красногорсклексредства»	1,88± 0,02
3.	Сенны листья (ООО «СТ-Медифарм»)	1,86± 0,03
4.	Сенны листья (ООО «ФитоСтарт»	1,21± 0,02
5.	Фиточай в фильтр-пакетах (ООО «Алтайский кедр»)	1,40± 0,03

С использованием разработанной методики проанализирован ряд образцов плодов сенны и показано, что содержание суммы антраценпроизводных в образцах сырья варьирует в пределах от 1,25 до 1,63% (в пересчете на сеннозид В) (табл. 5.33) [263].

Таблица 5.33 – Содержание суммы антраценпроизводных в различных образцах плодов сенны александрийской

№ п/п	Характеристика образца сырья	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на абсолютно сухое сырье и сеннозид В, %
1.	Плоды сенны александрийской (*Senna alexandrina* Mill.), собранные в период плодоношения (октябрь, 2013 г.) в Индии.	1,30± 0,02
2.	Плоды сенны александрийской (*Senna alexandrina* Mill.), собранные в период плодоношения (октябрь, 2014 г.) в Индии.	1,44± 0,03
3.	Плоды сенны александрийской (*Senna alexandrina* Mill.), собранные в период плодоношения (октябрь, 2015 г.) в Индии.	1,52± 0,03

С использованием разработанной методики проанализирован ряд образцов корневищ и корней марены красильной и показано, что содержание суммы антраценпроизводных в образцах сырья варьирует в пределах от 1,215до 1,63% (в пересчете на руберитриновую кислоту) (табл. 5.34) [263].

Таблица 5.34 – Содержание суммы антраценпроизводных в различных образцах корней марены красильной

№ п/п	Характеристика образца сырья	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на абсолютно сухое сырье и руберитриновую кислоту, %
1.	Корни марены красильной (*Rubia tinctorum* L.), заготовленные в марте 2013 г. в Краснодарском крае.	4,50± 0,12
2.	Корни марены красильной (*Rubia tinctorum* L.), заготовленные в марте 2014 г. в Краснодарском крае.	4,70 ±0,11
3.	Корни марены красильной (*Rubia tinctorum* L.), заготовленные в марте 2015 г. в Краснодарском крае.	4,85 ±0,10

5.3 Установление числовых показателей

В нормативную документацию на растительное сырье обязательно входит раздел «Числовые показатели» (содержание экстрактивных веществ, влаги, золы общей и не растворимой в 10% растворе кислоты, хлористоводородной, примесей), что побудило нас к их разработке. Числовые показатели определяли по методикам ГФ РФ XIII издания [56], в качестве объектов исследования использовали цельное сырье плодов сенны александрийской, измельченное сырье листьев сенны александрийской и корней марены красильной. Полученные результаты приведены в таблицах 18-20.

При изучении сроков годности плодов, листьев сенны александрийской и корней марены красильной установлено (табл. 5.35-5.40), что при его хранении, при температуре 18-20°С в сухом проветриваемом помещении в течение 3 лет не наблюдается изменений в содержании суммы флавоноидов и экстрактивных веществ, что позволило нам оставить прежний срок годности сырья исследуемых видов 3 года.

Таблица 5.35 - Результаты определения числовых показателей листьев сенны александрийской (измельченное сырье)

	Поставщик	Дата сбора сырья	Дата анализа	Содержание суммы антраценпроизводных, %	Влажность, %	Зола, %	Зола, нерастворимая в 10% растворе HCl, %	Органической примеси %	Минеральной примеси %	Частиц, не проходящих с/ сито 5мм, %	Частиц проходящих с/ сито 0,18мм, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	ОАО «Красногорск-лексредства»	08.2014	12.2014	1,75%	11%	11,5%	3,3%	2,9%	0,87%	4,5%	4,9%
2	ОАО «Красногорск-лексредства»	09.2014	12.2014	1,80%	11,5%	11,9%	3,5%	2,8%	0,9%	4,0%	4,85%
3	ОАО «Красногорск-лексредства»	08.2015	11.2015	1,88%	12%	11%	3,8%	2,85%	0,8%	4,3%	4,6%
4	ОАО «Красногорск-лексредства»	09.2015	11.2015	1,90%	11,8%	11,7%	3,6%	2,7%	0,85%	4,4%	4,5%
5	ОАО «Красногорск-лексредства»	09.2016	11.2016	1,85%	11,9%	11,5%	3,7%	2,88%	0,95%	4,8%	4,95%

Таблица 5.36 - Результаты определения числовых показателей плодов сенны александрийской (цельное сырье)

№	Поставщик	Дата сбора сырья	Дата анализа	Содержа-ние суммы антрацен-производ-ных, %	Влаж-ность, %	Зола, %	Зола, не раство-римая в 10% растворе HCl, %	Органи-ческой Приме-си %	Мине-ральной примеси %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Мумбай, Индия	09.2014	12.2014	1,39%	11,5%	11,8%	3,8%	2,6%	0,9%
2	Мумбай, Индия	10.2014	12.2014	1,35%	12%	11,5%	4,0%	2,85%	0,88%
3	Мумбай, Индия	09.2015	11.2015	1,4%	11,8%	11,7%	3,5%	2,9%	0,7%
4	Мумбай, Индия	10.2015	11.2015	1,43%	11,3%	11,5%	3,7%	2,85%	0,75%
5	Мумбай, Индия	10.2016	11.2016	1,39%	11%	12%	3,6%	2,5%	0,6%

Таблица 5.37 - Результаты определения числовых показателей корней марены красильной (измельченное сырье)

№	Поставщик	Дата сбора сырья	Дата анализа	Содержание суммы антраценпроизводных, %	Влажность, %	Зола, %	Зола, нерастворимая в 10% растворе HCl, %	Органической примеси %	Минеральной примеси %	Частиц, не проходящих с/ сито 7мм, %	Частиц проходящих с/ сито 0,5мм, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Краснодарский край	03.2014	12.2014	4,9%	11,7%	7,8%	3,3%	0,95%	2,8%	4,85%	4,75%
2	Краснодарский край	04.2014	12.2014	4,85%	12%	7,7%	3,7%	0,8%	2,75%	4,7%	4,83%
3	Краснодарский край	03.2015	11.2015	4,6%	11,9%	7,6%	3,5%	0,75%	2,6%	4,9%	4,9%
4	Краснодарский край	04.2015	11.2015	5,0%	11,5%	8,0%	3,6%	0,83%	2,85%	4,6%	4,87%
5	Краснодарский край	09.2016	11.2016	4,7%	11,8%	7,9%	3,4%	0,77%	2,9%	4,9%	4,9%

Таблица 5.38 - Результаты анализа 5 серий препарата “Сенны александрийской листья”, заложенных на хранение в Самарском государственном медицинском университете

№	Поставщик	Дата первичного анализа и переконтроля	ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА				Продолжительность хранения	Соответствие ФСП
			Числовые показатели					
			Содержание антраценов не менее 1,2 %	Влажность не более 12,0 %	Золы общ. не более 12,0 %	Зола не растворв 10% р-ре HCl не более 4%		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	ОАО «Красногорск-лексредства»	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	1,90 1,88 1,80 1,75 1,70 1,40	11,5 12,0 11,7 11,5 11,3 11,0	10,3 10,4 10,5 10,4 10,0 10,4	3,3 3,1 3,2 3,0 3,1 2,9	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соответствует
2	ОАО «Красногорск-лексредства»	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	1,60 1,55 1,50 1,43 1,40 1,30	10,5 10,0 10,3 10,5 9,5 10,0	11,3 11,4 11,2 11,1 10,9 10,8	2,8 3,0 3,1 2,9 2,85 2,88	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соответствует
3	ОАО «Красногорск-лексредства»	20.01.14 07.07.14 26.01.15	1,80 1,60 1,58	11,3 11,0 10,5	12,0 11,9 11,5	3,6 3,7 3,4	- 0,5 1,0	Соответствует

		18.07.15 21.01.16 20.07.16	1,55 1,40 1,35	10,3 10,5 10,4	11,6 11,3 11,8	3,45 3,5 3,3	1,5 2,0 2,5	
4	ОАО «Красногорск-лексредства»	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	1,75 1,63 1,62 1,60 1,55 1,45	11,5 11,3 11,2 11,4 10,9 11,0	11,6 11,3 11,5 11,7 11,4 11,3	4,0 3,9 3,8 3,7 3,9 3,8	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соот-ветст-вует
5	ОАО «Красногорск-лексредства»	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	1,73 1,70 1,65 1,60 1,53 1,40	11,9 11,5 11,3 10,9 10,5 10,3	11,8 11,5 11,6 11,3 11,0 11,1	3,8 3,7 3,9 3,7 3,6 3,5	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соот-ветст-вует

Таблица 5.39 - Результаты анализа 5 серий препарата “Сенны александрийской плоды”, заложенных на хранение в Самарском государственном медицинском университете

№	Поставщик	Дата первичного анализа и переконт-роля	ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА				Продол-жи-тельность хранения	Соот-ветст-вие ФСП
			Числовые показатели					
			Содержание антрацено в не менее 1,3 %	Влажность не более 12,0 %	Золы общ. не более 12,0 %	Зола не растворв 10% р-ре HCI не более 4%		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Мумбай, Индия	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	1,5 1,48 1,45 1,43 1,42 1,4	11,5 11,3 11,4 11,5 11,4 11,1	11,8 11,5 11,3 11,4 11,5 11,3	3,3 3,1 3,2 3,3 3,0 3,1	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соот-ветст-вует
2	Мумбай, Индия	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	1,45 1,43 1,40 1,40 1,41 1,40	10,3 10,4 10,5 10,3 10,1 10,1	11,6 11,5 11,5 11,3 11,2 11,0	3,5 3,3 3,4 3,2 3,3 3,1	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соот-ветст-вует
3	Мумбай, Индия	20.01.14 07.07.14 26.01.15	1,55 1,50 1,51	11,4 11,5 11,45	11,5 11,4 11,6	3,7 3,5 3,6	- 0,5 1,0	Соот-ветст-вует

		18.07.15 21.01.16 20.07.16	1,49 1,48 1,47	11,5 11,6 11,3	11,3 11,2 11,2	3,5 3,3 3,6	1,5 2,0 2,5	
4	Мумбай, Индия	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	1,48 1,47 1,45 1,40 1,39 1,38	11,9 11,8 11,6 11,5 11,3 11,2	11,8 11,8 11,7 11,5 11,3 11,4	3,8 3,7 3,6 3,75 3,6 3,5	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соответствует
5	Мумбай, Индия	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	1,40 1,39 1,35 1,30 1,30 1,30	11,5 11,3 11,4 11,6 11,3 11,4	10,5 10,4 10,5 10,6 10,3 10,3	3,5 3,3 3,3 3,2 3,1 3,0	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соответствует

Таблица 5.40 - Результаты анализа 5 серий препарата “Марены красильной корни”, заложенных на хранение в Самарском государственном медицинском университете

№	Поставщик	Дата первичного анализа и переконт-роля	ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА				Продол-жи-тельность хранения	Соот-ветст-вие ФСП
			Числовые показатели					
			Содержа ние антрацено в не менее 4,5 %	Влажно сть не более 12,0 %	Золы общ. не более 8,0 %	Зола не растворв 10% р-ре HCl не более 4%		
1	2	3	4	5	6	7	10	11
1	Краснодарс-кий край	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	4,85 4,8 4,79 4,75 4,70 4,69	11,9 11,5 11,3 10,9 10,5 10,3	7,7 7,6 7,65 7,6 7,7 7,5	3,5 3,3 3,5 3,4 3,35 3,3	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соот-ветст-вует
2	Краснодарс-кий край	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	4,7 4,69 4,63 4,60 4,58 4,5	11,3 11,2 11,1 11,3 11,2 11,0	8,0 7,9 7,8 7,9 7,75 7,6	3,9 3,8 3,7 3,75 3,6 3,6	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соот-ветст-вует

3	Краснодарс- кий край	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	4,65 4,63 4,64 4,60 4,60 4,58	10,9 10,8 10,9 10,7 10,8 10,75	7,5 7,3 7,4 7,5 7,3 7,3	3,3 3,4 3,5 3,3 3,2 3,3	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соот- ветст- вует
4	Краснодарс- кий край	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	4,83 4,80 4,80 4,75 4,73 4,70	11,3 11,2 11,3 11,4 11,5 11,3	7,8 7,6 7,7 7,6 7,5 7,4	4,0 3,9 3,8 3,9 3,85 3,8	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соот- ветст- вует
5	Краснодарс- кий край	20.01.14 07.07.14 26.01.15 18.07.15 21.01.16 20.07.16	4,63 4,61 4,58 4,53 4,50 4,50	11,8 11,7 11,8 11,6 11,7 11,6	8,0 7,9 7,8 7,9 7,7 7,6	3,9 3,7 3,9 3,8 3,7 3,6	- 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Соот- ветст- вует

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Сравнительный подход к стандартизации сырья фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные, свидетельствует о том, что во многих случаях в разделе «Качественные реакции» не предусмотрено использование ТСХ и анализ осуществляется с использованием пробирочных реакций. Кроме того, используемые в разделе «Количественное определение» методики количественного определения суммы антраценпроизводных, как правило, сложны, многостадийны и недостаточно специфичны в силу отсутствия научно обоснованных стандартных веществ.

2. На основе результатов химического исследования листьев сенны александрийской, плодов сенны александрийской и корней марены красильной разработаны новые методологические подходы к стандартизации сырья данных растений, заключающиеся в обнаружении диагностически значимых фенольных веществ – сеннозида В, неореина и 8-О-глюкозида торахризона (листья и плоды сенны), руберитриновой кислоты (корни марены красильной) с использованием ТСХ.

3. Разработаны методики качественного определения антраценпроизводных в сырье сенны александрийской, марены красильной с использованием ИК-спектроскопии. В результате исследования компонентного состава водно-спиртового извлечения из листьев сенны александрийской методом ИК-спектроскопии показало, что диагностическое значение имеют антрагликозиды - неореин (доминирующее вещество), кемпферол-3-О-гентиобиозида (флавоноид), 8-0-β-D-глюкопиранозид торахризона (производное нафталина); для плодов сенны александрийской диагностическое значение имеет антрагликозид – реин (доминирующее вещество), 8-О-глюкозид торахризона (производное нафталина), изорамнети-3-О-гентибиозид (флавоноид); для корней марены красильной – антрагликозид руберитриновая кислота (доминирующее вещество).

4. Разработаны методики качественного определения антраценпроизводных в сырье сенны александрийской, марены красильной с использованием ВЭЖХ.

Полученные результаты свидетельствует о перспективности метода ВЭЖХ как для качественного, так и для количественного анализа сырья марены красильной. Исследование спектров показало, что в водно-спиртовом извлечении из корней марены красильной преобладающим антраценпроизводным является руберитриновая кислота. Что же касается сырья сенны, метод ВЭЖХ возможно использовать исключительно в качественном анализе листьев и плодов сенны александрийской, так как содержание сеннозида В в сырье минимально.

5. Разработаны методики количественного определения антраценпроизводных в сырье сенны александрийской, марены красильной с использованием УФ-спектроскопии. В ходе исследований оптимизированы условия экстракции антраценпроизводных из ЛРС, а также научно обосновано использование в методиках количественного определения БАС стандартных образцов сеннозида В и руберитриновой кислоты для анализа соответствующего ЛРС. С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сырья сенны александрийской, марены красильной и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных в листьях сенны александрийской варьирует от 1,21 до 1,88 мг, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого препарата содержание суммы антраценпроизводных не менее 1,20 мг; в плодах сенны александрийской варьирует от 1,30 до 1,50 мг, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого препарата содержание суммы антраценпроизводных не менее 1,30 мг; в корнях марены красильной варьирует от 4,50 до 4,85 мг, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого препарата содержание суммы антраценпроизводных не менее 4,50 мг.

6. Для сырья вышеперечисленных лекарственных растений обоснован числовой показатель «Содержание суммы антраценпроизводных, который рекомендован для включения проекты фармакопейных статей на листья и плоды сенны александрийской и корней марены красильной.

7. Разработаны методики количественного определения антраценпроизводных в сборах «Тростинка», «Проктофитол», «Lux», «Сибирская

ласточка экстра», «Аэлит», «Фаворит», «Эффект», «Слабительный», «Для похудения» «Комфорт», «Для очищения организма», а также лекарственных препаратов «Сенаде» ,«Сенадексин», «Крушины экстракт таблетки» с использованием УФ-спектроскопии.

ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ, СТАНДАРТИЗАЦИИ И ИССДЕЛОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ АНТРАХИНОНЫ

Кора крушины, плоды жостера, листья сенны настоящего используются в качестве слабительного средства, повышающего моторную функцию толстого кишечника [134, 225, 226]. Сухой экстракт коры крушины, плодов жостера, листьев сенны и корней марены красильной часто является компонентом комплексных препаратов [49, 177]. На сегодняшний момент группа слабительных лекарственных средств представлена препаратами, имеющими химическую природу, и препаратами сенны. Что же касается лекарственных препаратов на основе сырья крушины ломкой, жостера слабительного и марены красильной, зарегистрированных на территории РФ, то перечень их достаточно представителен (это такие препараты, как рамнил, викаир, викалин, холагол, желчегонный сбор №3, проктофитол, фито чай «Целебная поляна №3» для похудения и др), хотя реальный ассортимент, представленный в аптеке, сводится к сырью коры крушины ломкой и плодам жостера слабительного. За рубежом зарегистрированных лекарственных препаратов на основе крушины и жостера гораздо больше, хотя преимущество остается за кассией [49, 177].

Поэтому актуальным представляется расширение ассортимента отечественных слабительных ЛС растительного происхождения, принимая во внимание в настоящее время особую актуальность импортозамещения.

Создание препаратов тесно связано с разработкой методик объективной стандартизации, унифицированных в ряду сырье – субстанция – препарат [92, 93, 112, 114, 115, 116, 135, 136, 241].

Существующие в настоящее время на фармацевтическом рынке РФ ЛП на основе лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные,

не в полной мере отвечают требованиям современной фармакоэкономики, а также имеют ряд недостатков (низкое содержание действующих веществ, неоптимальная технология приготовления и т.д.) [49].

В главе 3 обоснована целесообразность стандартизации сырья по содержанию доминирующей группы БАС – антраценпроизводные. Данный подход к стандартизации актуален и в случае определения подлинности ЛП, в том числе новых препаратов.

Для унификации методов анализа сырья и разработанных ЛП за основу взяты методики анализа, описанные при разработке стандартизации коры крушины, плодов жостера, листьев и плодов сенны александрийской, корней марены красильной (глава 3).

6.1. Разработка лекарственного препарата «Крушины сироп»: способ получения и стандартизация

6.1.1. Технология изготовления сиропа

Изготовление сиропа в лабораторных условиях начинали с получения отвара из коры крушины с использованием разных соотношений «сырье - готовый продукт» (1:1; 1:3; 1:6). Объем экстрагента для получения заданного объема готового продукта определяли с учетом коэффициента водопоглощения, который составляет 2,2 мл/г. Большинство отваров готовили фармакопейным методом [28, 52, 56]: известное количество сырья заливали определенным количеством воды очищенной комнатной температуры, нагревали на кипящей водяной бане 30 мин, охлаждали в течение 10 мин, фильтровали и доводили при необходимости полученный объем до необходимого соотношения «сырье – готовый продукт». С целью сравнения влияния жесткого нагрева на выход антраценпроизводных из сырья и их стабильность, в одном случае водное извлечение (1:3) получили кипячением в течение 15-20 мин на плитке сырья в определенном объеме воды очищенной, охлаждении в течение 10-15 мин и фильтровании. Полученный объем доводили до необходимого соотношения водой очищенной [28, 52, 56].

Водные извлечения из коры крушины использовали вместо воды очищенной для получения сахарных сиропов фармакопейным способом [51, 56]. Для этого 36 г водных извлечений смешивали с 64 г сахара-рафинада и нагревали смесь до полного растворения сахара, доводили до кипения дважды, каждый раз снимая образующуюся при этом пену. Сиропы фильтровали через марлю в горячем виде и доводили до исходной массы водой очищенной [52, 56].

6.1.2. Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Крушины сироп» с помощью УФ-спектрофотометрии

С целью изучения УФ-спектров полученных сиропов в щелочно-аммиачной среде и количественного определения суммы антраценпроизводных, точную навеску сиропа (2,0 г) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили водой до метки и перемешивали (исходный раствор). 2 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор). Испытуемый раствор нагревали в течение 15 мин на кипящей водяной бане. После охлаждения снимали электронный спектр испытуемого раствора в диапазоне 190-700 нм. Для получения дифференциальных электронных спектров в качестве раствора сравнения использовали раствор, полученный следующим образом: 2,0 мл исходного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем водой очищенной до метки [123, 133, 193, 296].

Для количественного определения антраценпроизводных в исследуемых образцах коры крушины использовали разработанную ранее методику (экстрагент – 40% этиловый спирт, соотношение «сырье – экстрагент» - 1:50, время экстракции – 90 мин) [131, 255].

Исследование электронных спектров показало, что электронные спектры сиропа крушины совпадают со спектрами извлечения из коры крушины, а максимум поглощения находится при 524+3 нм, что характерно и для щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из коры крушины ломкой (рис. 6.1). Следует

отметить, что показательными для оценки подлинности являются дифференциальные спектры растворов (спектры испытуемых растворов на фоне раствора сравнения) (рис. 6.2) [131, 152, 156, 255].

В длинноволновой области электронного спектра щелочно-аммиачного раствора франгулина А также наблюдается четкий максимум поглощения при 524+2 нм (рис. 6.3). Следовательно, в качестве аналитической длины волны может быть использовано значение 524 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид - франгулин А, причем в случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения (180) [131, 255].

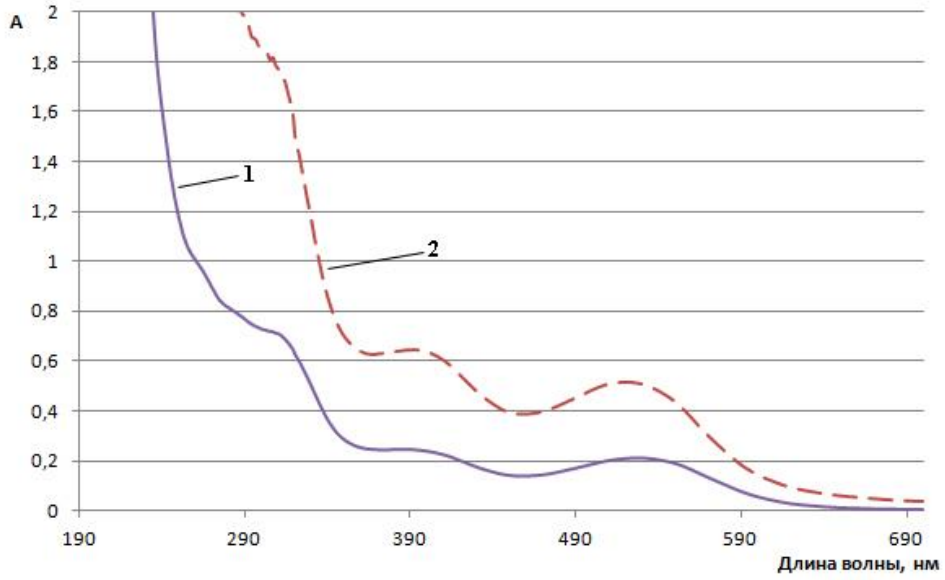


Рисунок 6.1 - Электронные спектры щелочно-аммиачного раствора сиропа крушины (1) и щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из коры крушины (2)

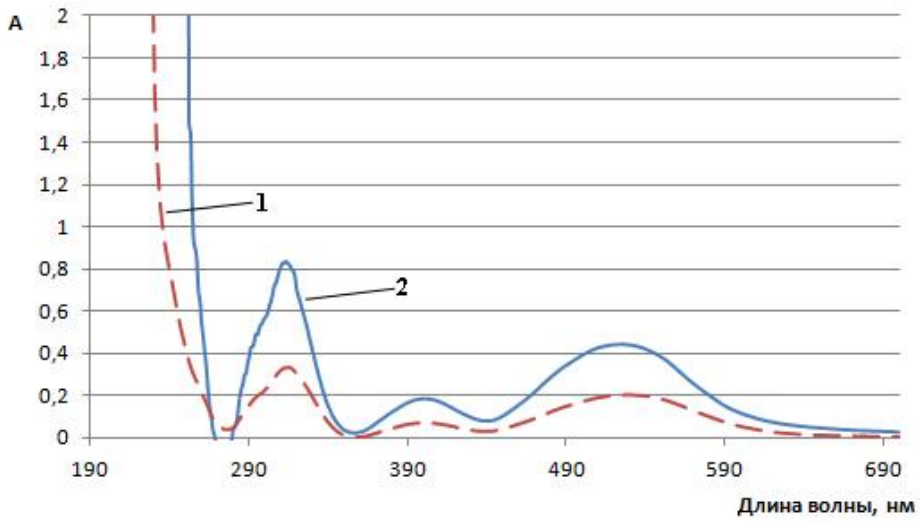


Рисунок 6.2 - Дифференциальные спектры щелочно-аммиачного раствора сиропа крушины (1) и щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из коры крушины (2)

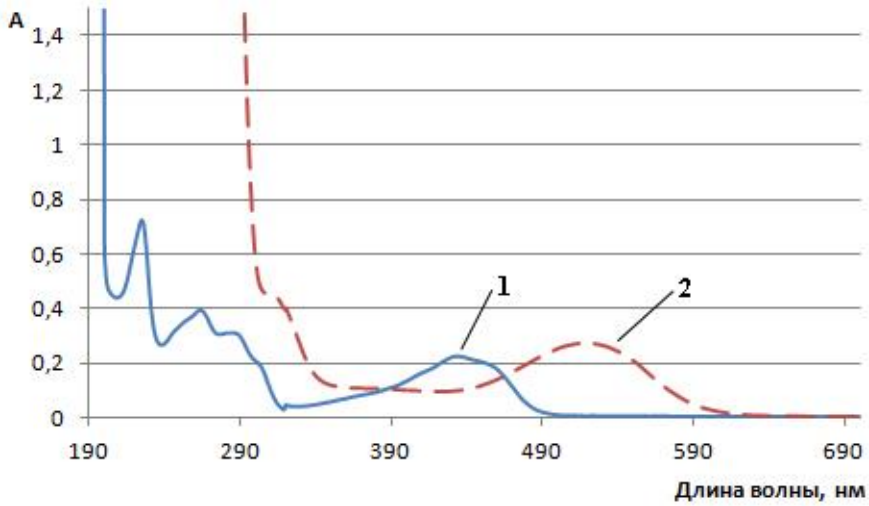


Рисунок 6.3 - Электронные спектры исходного раствора франгулина А(1) и раствора франгулина А в щелочно-аммиачной среде (2)

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе крушины.

2,0 г сиропа (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем водой очищенной до метки и перемешивают (раствор А) [123, 193, 296].

2 мл раствора А вносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным в соответствии с ГФ СССР XI издания [50], и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 524 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [123, 193, 296].

Примечание 1: *Приготовление раствора рабочего стандартного образца (РСО) франгулина А*. Около 0,02 (точная навеска) франгулина А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А франгулина А). 1 мл раствора А франгулина А помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора Б на спектрофотометре при длине волны 524 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [123, 193, 296].

Содержание суммы антраценпроизводных (Х) в пересчете на франгулин А в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * m_0 * 25 * 25 * 1 * 100}{D_0 * m * 2 * 50 * 25}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора РСО франгулина А;

m – масса навески сиропа, г;

m_0 – масса РСО франгулина А, г.

При отсутствии стандартного образца франгулина А целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения – 180 [123, 193, 296]:

$$X = \frac{D \times 25 \times 25}{m \times 2 \times 180},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

180 – удельный показатель поглощения ($E_{1см}^{1\%}$) щелочно-аммиачного раствора РСО франгулина А при 524 нм.

Содержание суммы антраценпроизводных в сиропе крушины (пересчете на франгулин А) варьирует от 0,30±0,01% до 0,39±0,01% [123, 296].

Результаты статистической обработки проведенных опытов показывают, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сиропе крушины с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,17% [123, 296].

Метрологические характеристики метода количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе крушины представлены в таблице 6.1 [123, 296].

Таблица 6.1 - Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в сиропе крушины

n	*f*	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	*ΔX*	*E, %*
11	10	0,37	0,0069	95	2,23	±0,015	±4,17

С использованием данной методики были проанализированы полученные образцы сиропов коры крушины ломкой из отваров в соотношении 1:1, 1:3, 1:3 (кипячение на плитке) и 1:6 (указаны соотношения весовых частей сырья и готового продукта). Также был оценен выход антраценпроизводных в готовом продукте по отношению к их суммарному содержанию в исследуемых образцах лекарственного растительного сырья. Результаты представлены в таблице 6.2 [123, 296].

Таблица 6.2 - Содержание суммы антраценроизводных в различных образцах сиропа коры крушины ломкой в пересчете на франгулин А

№ п/п	Отвар, из которого получен сироп	Содержание суммы антраценпроизводных в препарате пересчете на франгулин А, %	Выход антраценпроизводных по отношению к их содержанию в исходном сырье, %
1	Отвар 1:1 (соответствующий зарегистрированному лекарственному препарату)	0,39±0,01%	18,1±0,5%
2	Отвар 1:3	0,30±0,01%	31,6±0,4%
3	Отвар 1:3 (кипячение на плитке)	0,37±0,01%	47,7±0,4%
4	Отвар 1:6	0,15±0,01%	38,6±0,5%

Как видно из таблицы 6.2, близким по содержанию антраценпроизводных к сиропу, представляющему собой модель зарегистрированного лекарственного препарата (из отвара 1:1), является сироп из отвара 1:3, полученного кипячением на электрической плитке. Однако последний образец обладает преимуществом по эффективности извлечения антраценпроизводных из исходного сырья, а также количеством готового продукта, полученного из одной и той же массы лекарственного растительного сырья (в 3 раза больше). Оценка стабильности антраценпроизводных в сиропе из отвара, полученного кипячением на плитке, с использованием методов тонкослойной хроматографии, спектроскопии в УФ- и видимой области спектра не показала существенных различий по качественному составу от других образцов [123, 296].

Таким образом, в ходе исследования была разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе крушины и

обосновано использование отвара в соотношении 1:3 в качестве фармацевтической субстанции для получения сиропа [123, 296].

6.2. Разработка лекарственного препарата «Жостера сироп»: способ получения и стандартизация

6.2.1. Технология изготовления сиропа

Изготовление сиропа в лабораторных условиях начинали с получения отвара из плодов жостера слабительного с использованием разных соотношений «сырье - готовый продукт» (1:1; 1:3; 1:6). Большинство отваров готовили фармакопейным методом [52, 56, 180]: известное количество сырья заливали определенным количеством воды очищенной комнатной температуры, нагревали на кипящей водяной бане 30 мин, охлаждали в течение 10 мин, фильтровали и доводили при необходимости полученный объем до необходимого соотношения «сырье – готовый продукт». С целью сравнения влияния жесткого нагрева на выход антраценпроизводных из сырья и их стабильность, в одном случае водное извлечение (1:3) получили кипячением в течение 15-20 мин на плитке сырья в определенном объеме воды очищенной, охлаждении в течение 10-15 мин и фильтровании. Полученный объем доводили до необходимого соотношения водой очищенной [192, 320].

Водные извлечения из коры крушины использовали вместо воды очищенной для получения сахарных сиропов фармакопейным способом [52, 56]. Для этого 36 г водных извлечений смешивали с 64 г сахара-рафинада и нагревали смесь до полного растворения сахара, доводили до кипения дважды, каждый раз снимая образующуюся при этом пену. Сиропы фильтровали через марлю в горячем виде и доводили до исходной массы водой очищенной [52, 56].

6.2.2. Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Жостера сироп» с помощью УФ-спектрофотометрии

С целью изучения УФ-спектров полученных сиропов в щелочно-аммиачной среде и количественного определения антраценпроизводных, точную навеску сиропа (2,0 г) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили водой до метки и перемешивали (исходный раствор). 2 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор). Испытуемый раствор нагревали в течение 15 мин на кипящей водяной бане. После охлаждения снимали электронный спектр испытуемого раствора в диапазоне 190-700 нм. В качестве раствора сравнения раствор, полученный следующим образом: 1 мл исходного раствора (1:25) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки (рис. 6.4) [320].

Для количественного определения суммы антраценпроизводных в исследуемых исходных образцах плодов жостера использовали разработанную ранее методику (экстрагент – 40% этиловый спирт, соотношение «сырье – экстрагент» - 1:50, время экстракции – 60 мин) (рис. 6.5, 6.6) [139, 152, 192, 255, 320].

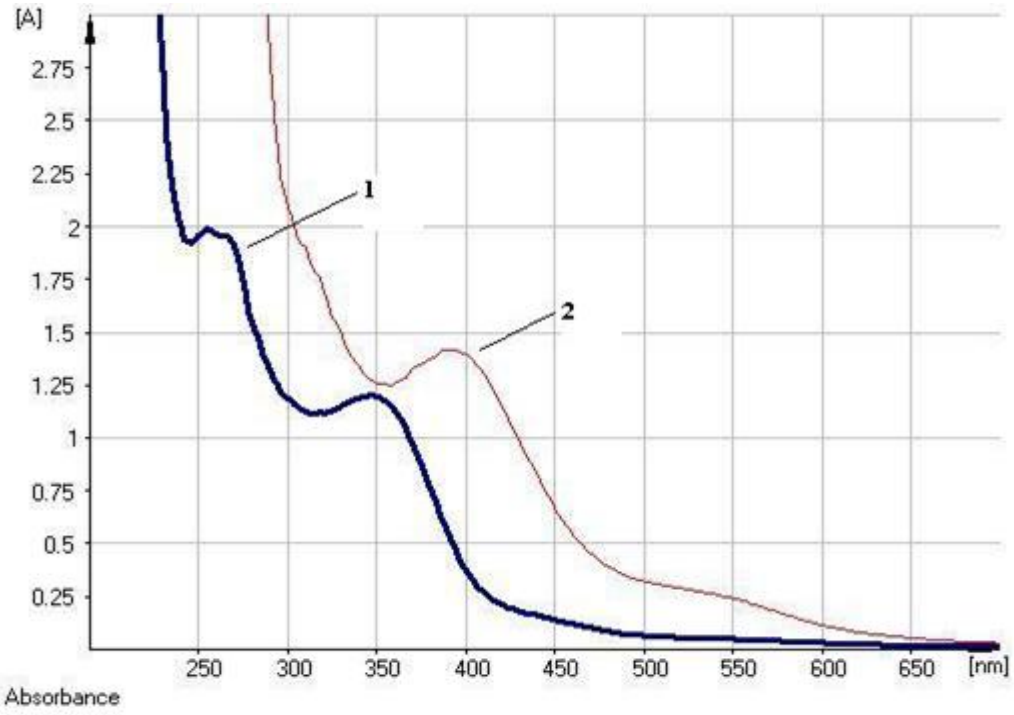


Рисунок 6.4 - Электронные спектры сиропа жостера (1) и щелочно-аммиачного раствора сиропа жостера (2)

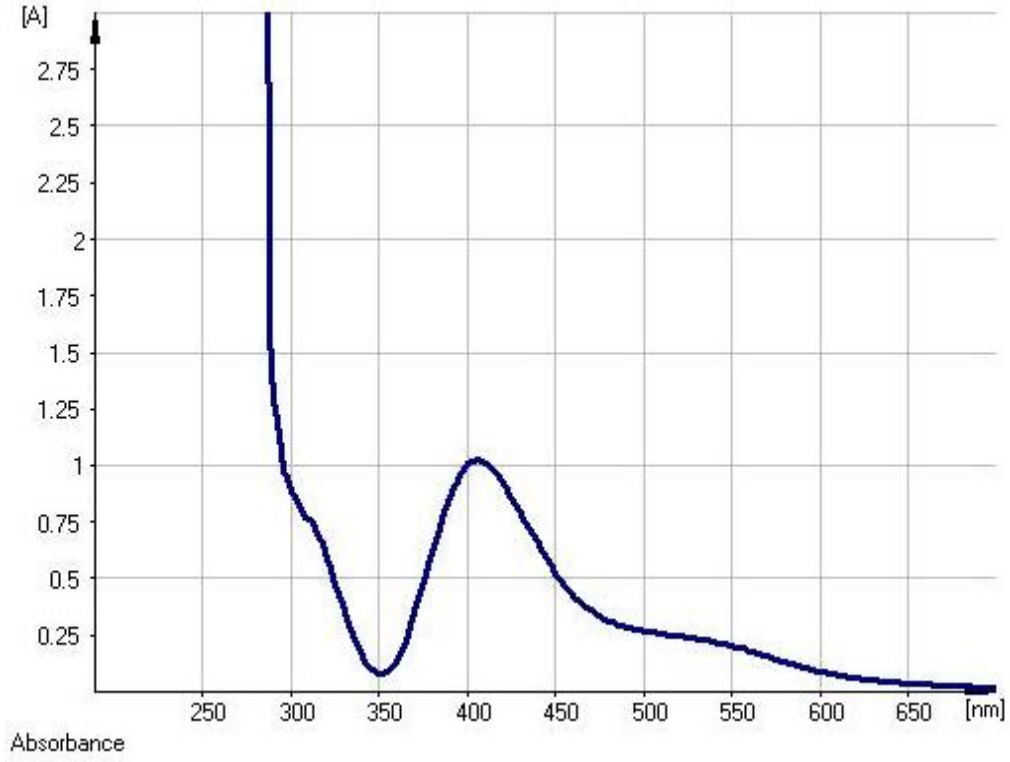


Рисунок 6.5 - Электронные спектр щелочно-аммиачного раствора сиропа жостера (дифференциальный вариант)

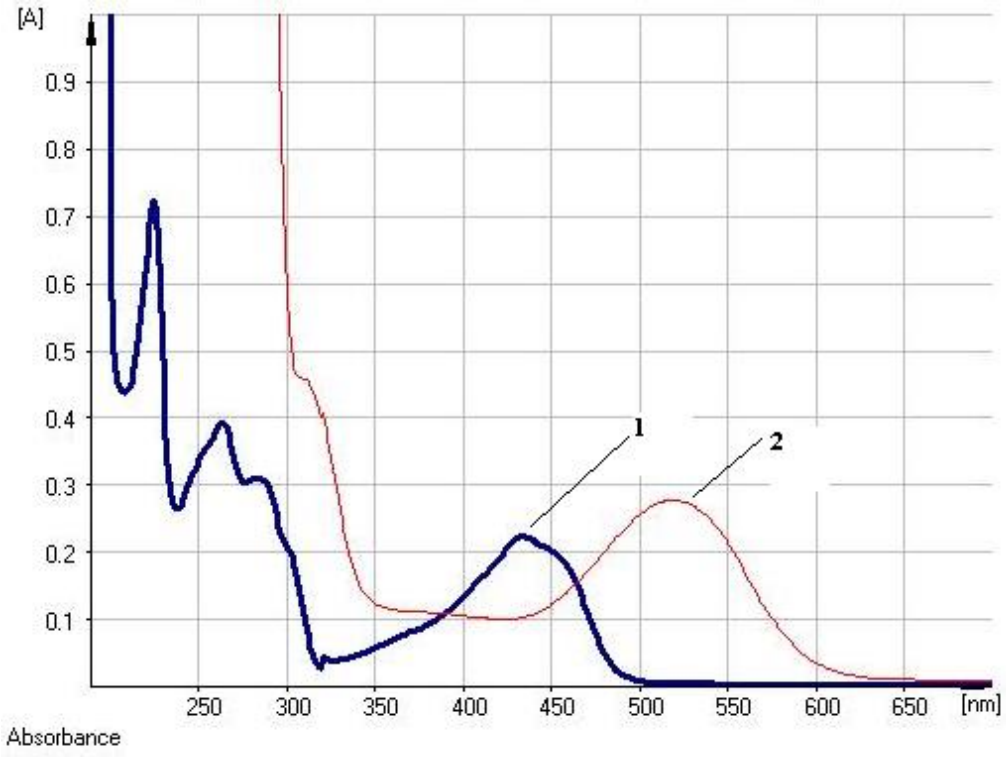


Рисунок 6.6 - Электронные спектры исходного раствора франгулина А(1) и раствора франгулина А в щелочно-аммиачной среде (2)

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе жостера.

2,0 г сиропа (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем водой очищенной до метки и перемешивают (раствор А) [320].

2 мл раствора А вносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным в соответствии с ГФ СССР XI издания [52], и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 524 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [320].

Примечание 1: *Приготовление раствора рабочего стандартного образца (РСО) франгулина А.* Около 0,02 (точная навеска) франгулина А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной

температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А франгулина А). 1 мл раствора А франгулина А помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора Б на спектрофотометре при длине волны 524 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [320].

Содержание суммы антраценпроизводных (Х) в пересчете на франгулин А в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * m_0 * 25 * 25 * 1 * 100}{D_0 * m * 2 * 50 * 25}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора РСО франгулина А;

m – масса навески сиропа, г;

m_0 – масса РСО франгулина А, г.

При отсутствии стандартного образца франгулина А целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения – 180:

$$X = \frac{D \times 25 \times 25}{m \times 2 \times 180},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

180 – удельный показатель поглощения ($E^{1\%}_{1см}$) щелочно-аммиачного раствора РСО франгулина А при 524 нм.

Содержание суммы антраценпроизводных в сиропе жостера (пересчете на франгулин А) варьирует от 0,22±0,002% до 0,25±0,003% [320].

Результаты статистической обработки проведенных опытов показывают, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сиропе жостера с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,17% [320].

Метрологические характеристики метода количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе жостера представлены в таблице 6.3 [320].

Таблица 6.3 - Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в сиропе жостера

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	*ΔX*	*E, %*
10	0,22	0,0041	95	2,23	± 0,009	± 4,17%

С использованием данной методики были проанализированы полученные образцы сиропов плодов жостера слабительного из отваров в соотношении 1:1, 1:3, 1:3 (кипячение на плитке) и 1:6 (указаны соотношения весовых частей сырья и готового продукта). Также был оценен выход антраценпроизводных в готовом продукте по отношению к их суммарному содержанию в исследуемых образцах лекарственного растительного сырья. Результаты представлены в таблице 6.4 [320].

Таблица 6.4 - Содержание суммы антраценпроизводных в различных образцах сиропа плодов жостера слабительного в пересчете на франгулин А

№ п/п	Отвар, из которого получен сироп	Содержание суммы антраценпроизводных в препарате пересчете на франгулин А, %	Выход антраценпроизводных по отношению к их содержанию в исходном сырье, %
1	Отвар 1:1 (соответствующий зарегистрированному лекарственному препарату)	0,25±0,003%	20,2±0,5%
2	Отвар 1:3	0,22±0,003%	46,3±0,4%
3	Отвар 1:3 (кипячение на плитке)	0,23±0,004%	46,7±0,5%
4	Отвар 1:6	0,12±0,002%	45,7±0,5%

Как видно из таблицы 6.4, близким по содержанию антраценпроизводных к сиропу, представляющему собой модель зарегистрированного лекарственного препарата (из отвара 1:1), является сироп из отвара 1:3, полученного кипячением на электрической плитке. Однако последний образец обладает преимуществом по эффективности извлечения антраценпроизводных из исходного сырья, а также количеством готового продукта, полученного из одной и той же массы лекарственного растительного сырья (в 3 раза больше). Оценка стабильности антраценпроизводных в сиропе из отвара, полученного кипячением на плитке, с использованием методов тонкослойной хроматографии, спектроскопии в УФ- и видимой области спектра не показала существенных различий по качественному составу от других образцов [320].

Таким образом, в ходе исследования была разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе жостера и обосновано использование отвара в соотношении 1:3 в качестве субстанции для получения сиропа [320].

6.3. Разработка лекарственного препарата «Сенны сироп»:

способ получения и стандартизация

6.3.1. Технология изготовления сиропа сенны

Изготовление сиропа в лабораторных условиях начинали с получения отвара из листьев сенны с использованием соотношения «сырье - экстрагент» (1:7). Первый образец отвара готовили фармакопейным методом [31, 51, 56, 182]: известное количество сырья заливали определенным количеством воды очищенной комнатной температуры, нагревали на кипящей водяной бане 30 мин, охлаждали и фильтровали. С целью сравнения влияния жесткого нагрева на выход антраценпроизводных из сырья и их стабильность, во втором случае водное извлечение (1:7) получали кипячением в течение 15-20 мин на плитке сырья в определенном объеме воды очищенной с последующим охлаждением и фильтрованием.

Полученные водные извлечения из листьев сенны использовали вместо воды очищенной для получения сахарных сиропов фармакопейным способом. Для этого 36 г водных извлечений смешивали с 64 г сахара-рафинада и нагревали смесь до полного растворения сахара, доводили до кипения дважды, каждый раз снимая образующуюся при этом пену. Сиропы фильтровали через марлю в горячем виде и доводили до исходной массы водой очищенной [52, 56].

6.3.2. Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Сенны сироп» с помощью УФ-спектрофотометрии

С целью изучения УФ-спектров полученных сиропов в щелочно-аммиачной среде и количественного определения антраценпроизводных, точную навеску сиропа (2,0 г) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили водой до метки и перемешивали (исходный раствор). 2 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор). Испытуемый раствор нагревали в течение 15 мин на кипящей водяной бане. После охлаждения снимали электронный спектр испытуемого раствора в диапазоне 190-700 нм. Для получения дифференциальных электронных спектров в качестве раствора сравнения использовали раствор, полученный следующим образом: 2,0 мл исходного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем водой очищенной до метки [124, 191, 297].

Для количественного определения антраценпроизводных в исследуемых образцах листьев сенны использовали разработанную ранее методику (экстрагент – 70% этиловый спирт, соотношение «сырье – экстрагент» - 1:50, время экстракции – 60 мин) [124, 297].

Исследование электронных спектров показало, что электронные спектры сиропа сенны совпадают со спектрами водного извлечения из листьев сенны (рис. 6.7), а максимум поглощения для щелочно-аммиачного раствора находится при

530±3 нм (рис. 6.8), что характерно и для щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из листьев сены [124, 191, 297].

Следовательно, в качестве аналитической длины волны может быть использовано значение 530 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид – сеннозид В, причем в случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения ($E_{1см}^{1\%}$ =240) [124, 297].

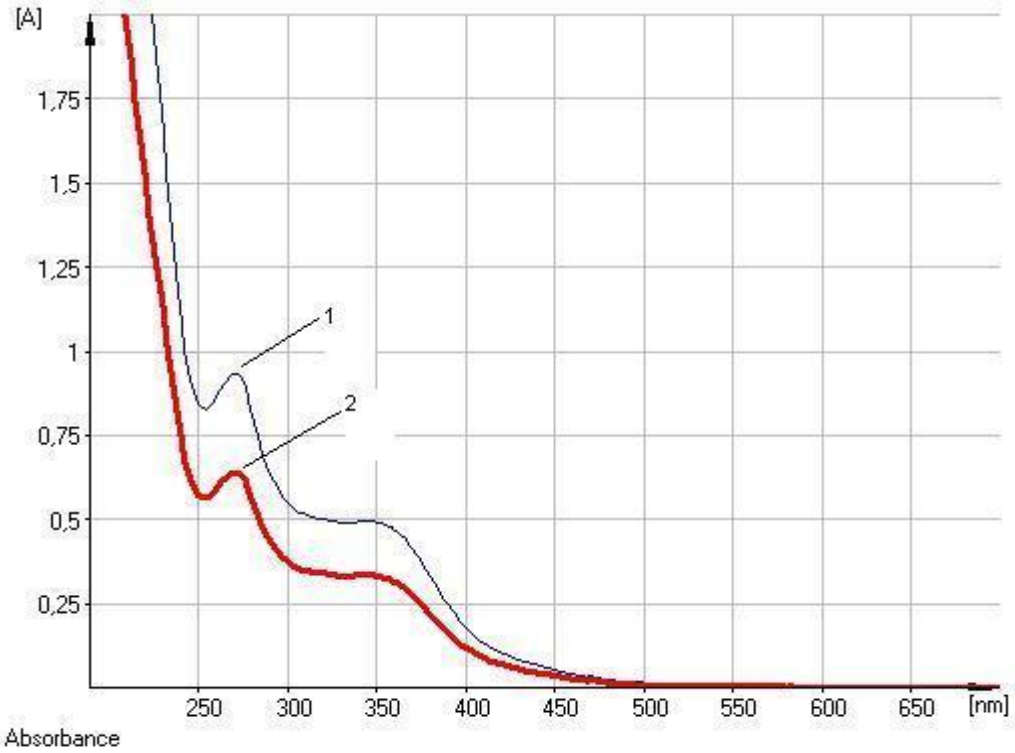


Рисунок 6.7 - Электронные спектры раствора водного извлечения из листьев сенны (1) раствора сиропа сенны (2)

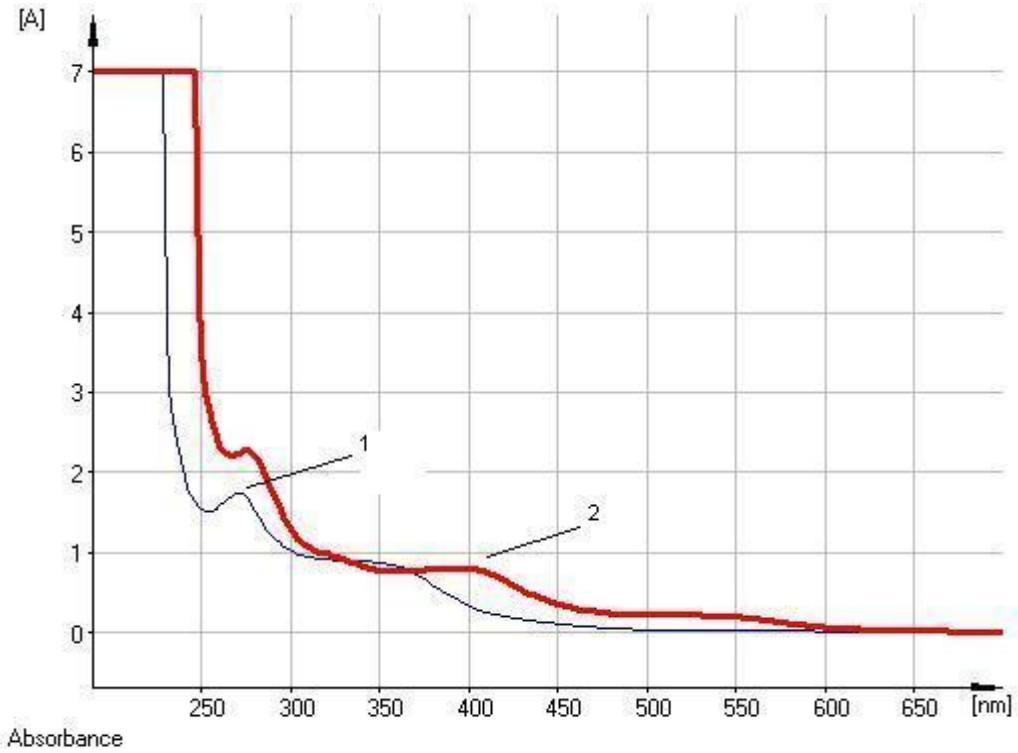


Рисунок 6.8 - Электронные спектры раствора сиропа сенны (1) и щелочно-аммиачного раствора сиропа сенны (2)

Важно также отметить, что в условиях прямой спектрофотометрии (рис. 6.8) и дифференциальной спектрофотометрии (рис. 6.9) получены сопоставимые значения оптической плотности, свидетельствующие о возможности использования обоих вариантов в методике количественного определения суммы антраценпроизводных. В качестве методического решения выбран более простой вариант – прямая спектрофотметрия, как и в случае листьев кассии [124, 297], а также сиропа крушины [123, 296].

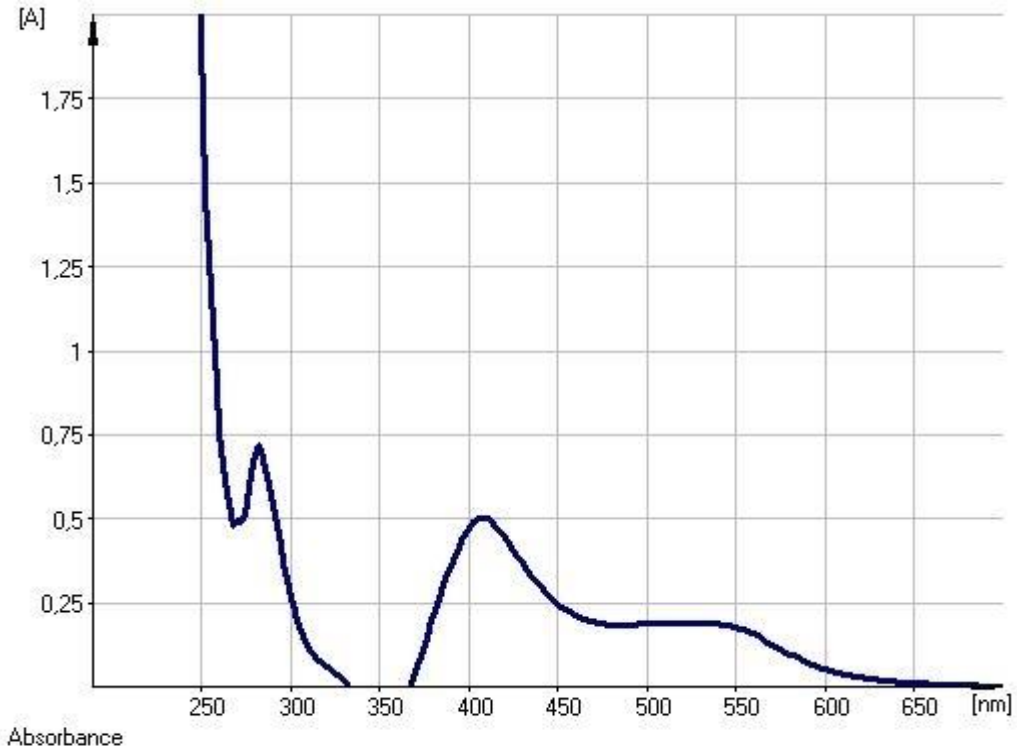


Рисунок 6.9 - Электронный спектр щелочно-аммиачного раствора сиропа сенны (дифференциальный вариант)

Заслуживает внимания и тот факт, что характер кривой поглощения раствора сиропа в основном обусловливают флавоноиды (рис. 6.10), в частности, выделенный нами кемпферол-3-О-гентиобиозид [129], хотя определенный вклад вносят и другие компоненты - 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (неореин), 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (производное нафталина) (рис. 6.11) [129].

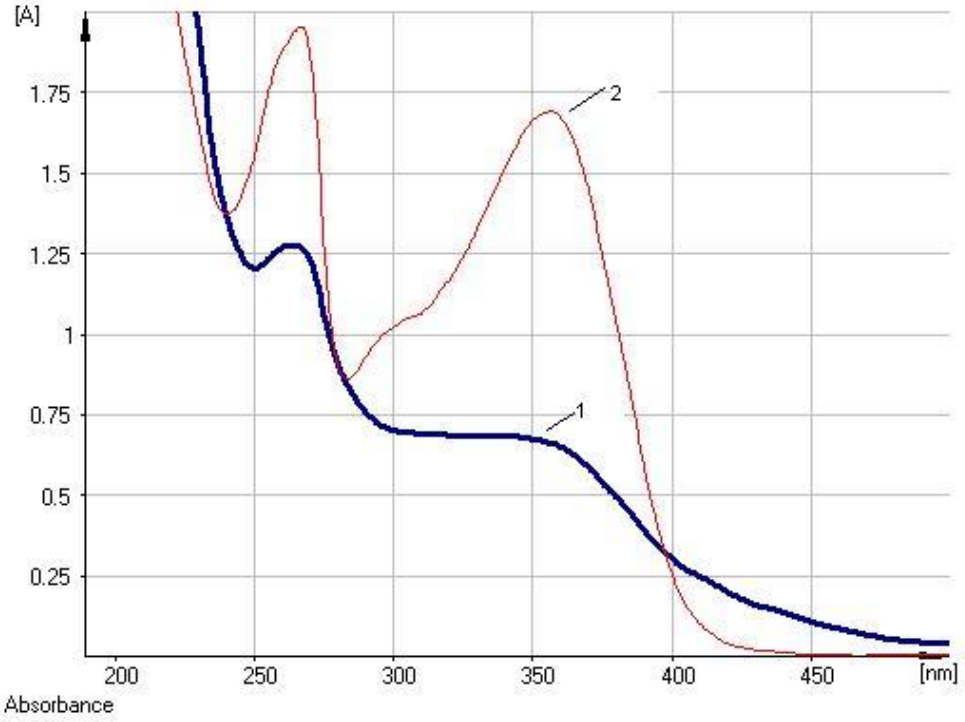


Рисунок 6.10 - Электронные спектры раствора сиропа сенны (1) и раствора кемпферол-3-О-гентиобиозида (2)

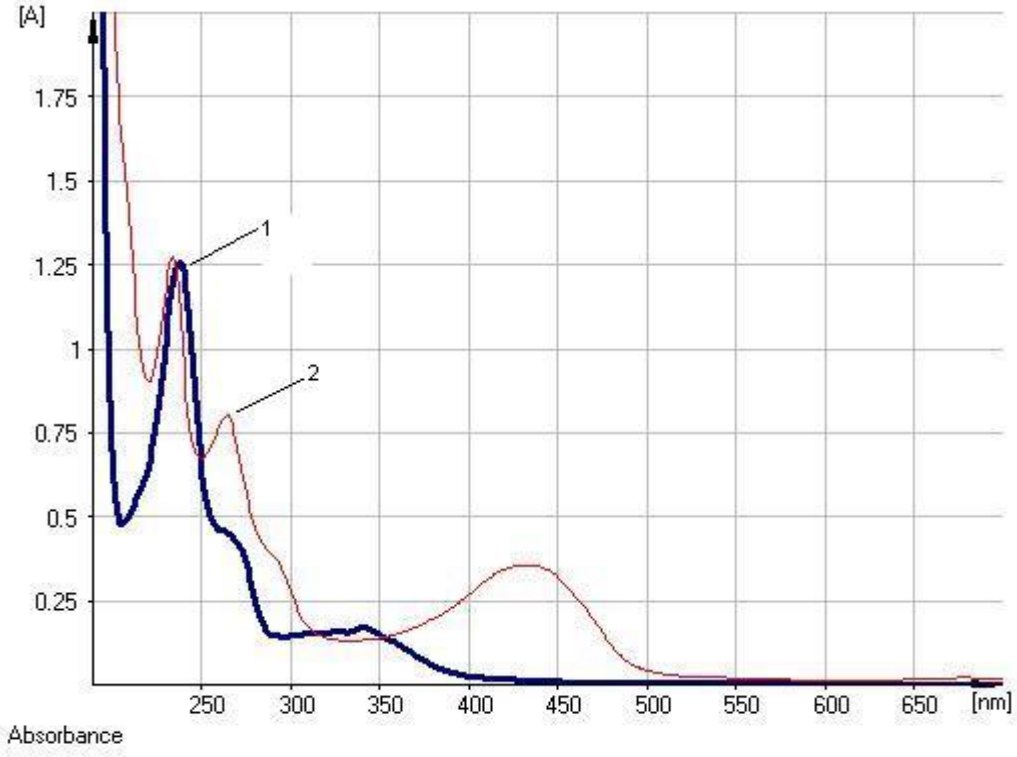


Рисунок 6.11 - Электронные спектры раствора 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (1) и 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинона (2)

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе сенны.

5,0 г сиропа (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем водой очищенной до метки и перемешивают (раствор А) [124, 297].

2 мл раствора А вносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным в соответствии с ГФ СССР XI издания [51], и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 530 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [124, 297].

Содержание суммы антраценпроизводных (X) в сиропе сенны в пересчете на сеннозид В в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times 25}{m \times 5 \times 2 \times 240},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса навески сиропа, г;

240 – удельный показатель поглощения ($E^{1\%}_{1см}$) щелочно-аммиачного раствора РСО сеннозида В при 530 нм.

Результаты статистической обработки проведенных опытов показывают, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сиропе сенны с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,17% [124, 297].

Метрологические характеристики метода количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе сенны представлены в таблице 6.5.

Определено, что содержание суммы антраценпроизводных в сиропе сенны (в пересчете на сеннозид В) варьирует от 0,026%±0,001 % (на основе отвара, полученного в соответствии с ГФ СССР XI издания) до 0,055%±0,002 % (на основе отвара, полученного с использованием кипячения). С учетом содержания суммы антраценпроизводных в исследуемом сырье (1,68%), выход антраценпроизводных

из сырья сенны в случае использования режима кипячения в 1,5 раза выше по сравнению с фармакопейным методом (табл. 6.6) [124, 297].

Таблица 6.5 - Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в сиропе сенны

n	*f*	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	*ΔX*	*E, %*
11	10	0,055	0,0010	95	2,23	±0,0023	±4,25

Таблица 6.6 - Содержание суммы антраценпроизводных в образцах отвара листьев сенны

№ п/п	Отвар, из которого получен сироп	Содержание суммы антраценпроизводных в препарате пересчете на сеннозид В, %	Выход антраценпроизводных по отношению к их содержанию в исходном сырье, %
1.	Отвар 1:7	0,118 ±0,002	46,61
2.	Отвар 1:7 (кипячение на плитке)	0,174±0,003	69,09

Таким образом, в ходе исследования разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе сенны и обосновано использование отвара, приготовленного в условиях кипячения в воде очищенной в соотношении «сырье-экстрагент» - 1:7, в качестве субстанции для получения данной лекарственной формы [124, 297].

6.4. Разработка лекарственного препарата «Густой экстракт плодов сенны»: способ получения и стандартизация

6.4.1. Технология изготовления густого экстракта плодов сенны

Экстрагирование плодов сенны александрийской проводили разными методами (модифицированной мацерацией, перколяцией и реперколяцией) из навесок одной и той же выборки сырья, при одинаковых условиях, соотношение сырье – экстрагент 1:10. Извлечения представляли собой темную, мутную жидкость, а при отстаивании образовывался осадок. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 40 % (как показавший преимущества в фармакологических экспериментах) [52, 181].

Модифицированная мацерация. Сырье делили на 3 равные части. Первую часть настаивали12 часов, вторую – 6 часов, третью – 30 мин на кипящей водяной бане. Далее сырье отжимали, извлечение отстаивали 2 суток на холоде (при температуре 8ºС) для осаждения балластных веществ, затем отфильтровывали [51].

Перколяция. Метод перколяции включает три последовательно протекающие стадии: намачивание сырья (набухание сырья), настаивание, собственно перколяция. Экстракция осуществлялась с использованием лабораторного перколятора. Перколяцию проводили по методике ГФ СССР XI издания [51, 52].

Реперколяция. Проводили с использованием батареи из трех лабораторных перколяторов по методике ГФ СССР XI издания [52].

На основании проведенных исследований выбран метод экстрагирования - перколяция и подобраны оптимальные условия экстрагирования из плодов сенны александрийской (табл. 6.7).

Таблица 6.7 - Результаты количественного содержания суммы антраценпроизводных в извлечении плодов сенны александрийской на спирте этиловом 40% (1:10) в зависимости от способа получения

№	Метод экстрагирования	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В, %
1	Мацерация	0,18±0,002
2	Перколяция	0,22±0,003
3	Реперколяция	0,12±0,002

Полученное очищенное извлечение упаривали под вакуумом для отгонки экстрагента на роторном испарителе модели «ИР-1 ЛТ» для получения густого экстракта из плодов сенны александрийской с влажностью не более 25 %.

6.4.2 Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Густой экстракт плодов сенны» с помощью УФ-спектрофотометрии

В ходе разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных в густом экстракте плодов сенны александрийской изучены УФ-спектры густого экстракта и стандартного раствора сеннозида В. Исследование УФ-спектров показало, что максимум поглощения щелочно-аммиачного раствора густого экстракта плодов сенны александрийской в длинноволновой области спектра находится при 530+2 нм (рис. 6.12), что соответствует спектральным характеристикам и других антраценпроизводных [145].

В длинноволновой области электронного спектра щелочно-аммиачного раствора сеннозида В также наблюдается четкий максимум поглощения при 530+2 нм (рис. 6.13). Следовательно, в качестве аналитической длины волны может быть использовано значение 530 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид – сеннозид В, причем в случае отсутствия стандарта

в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения (Е) – 240 [145].

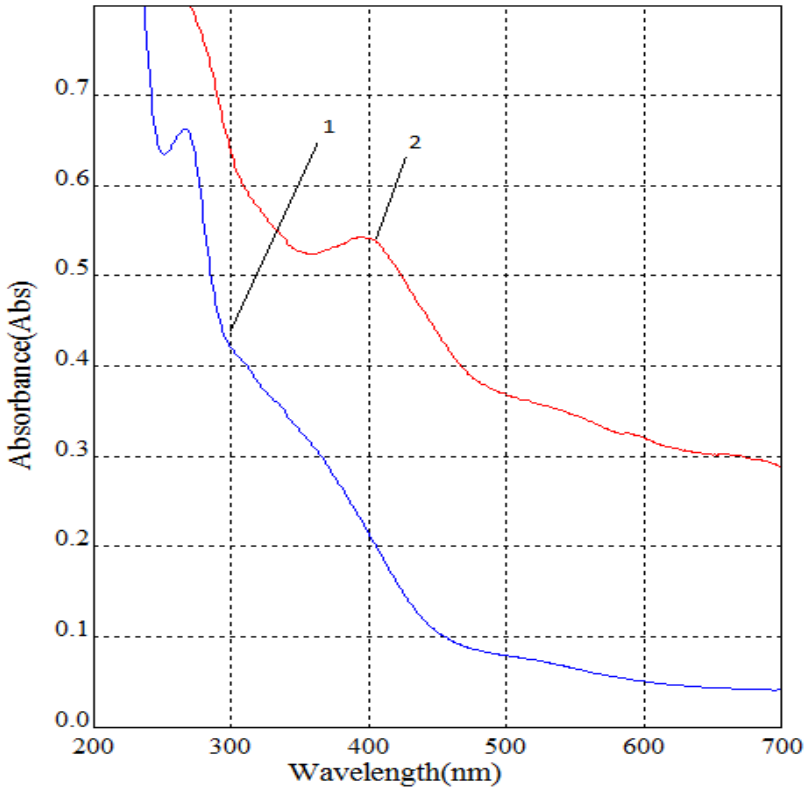


Рисунок 6.12 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) густого экстракта плодов сенны александрийской

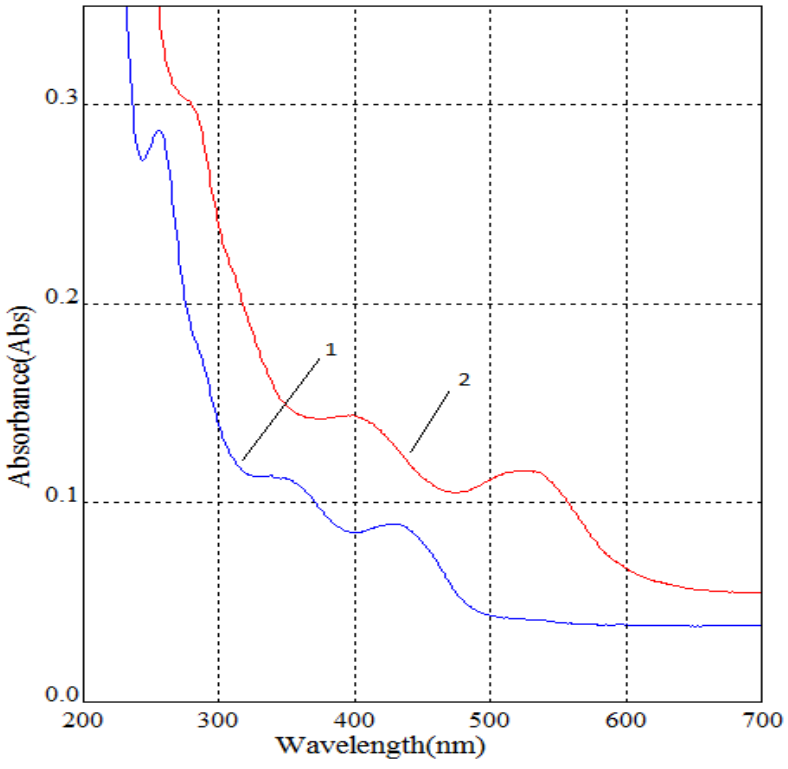


Рисунок 6.13 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) сеннозида В

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в густом экстракте плодов сенны александрийской.

Около 0,2 г (точная навеска) густого экстракта плодов сенны александрийской растворяют при нагревании в 30 мл 40 % спирта этилового в колбе емкостью 100 мл. Полученный раствор переносят количественно в мерную колбу на 50 мл, доводят объем до метки 40 % спиртом этиловым и перемешивают (раствор А) [145].

1 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 530 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [145].

Примечание: *Приготовление раствора сеннозида В-стандартного образца.* Около 0,02 г (точная навеска) сеннозида В помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А сеннозида В). 1 мл раствора А сеннозида В помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 530 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [145].

Содержание суммы антраценпроизводных в густом экстракте плодов сенны александрийской в процентах (Х) в пересчете на сеннозид В вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * m_0 * 50 * 1 * 50 * 100}{D_0 * m * 50 * 1 * 25},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_o – оптическая плотность раствора РСО сеннозида В;

m – масса густого экстракта, г;

m_o – масса РСО сеннозида В, г;

При отсутствии стандартного образца сеннозида В для расчета содержания суммы антраценпроизводных в густом экстракте плодов сенны александрийской в процентах (Х) может быть использована упрощенная формула расчета:

$$X = \frac{D * 50 * 50}{m * 240 * 1},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

240 – удельный показатель поглощения ($E^{1\%}_{1см}$) щелочно-аммиачного раствора РСО сеннозида В при 530 нм.

Содержание суммы антраценпроизводных в густом экстракте плодов сенны (пересчете на сеннозид В) варьирует от 10,0±0,02% до 10,3±0,02% [145].

Результаты статистической обработки проведенных опытов показывают, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в густом экстракте плодов сенны с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,40% [145].

Метрологические характеристики метода количественного определения суммы антраценпроизводных в густом экстракте плодов сенны александрийской представлены в таблице 8 [145].

Таблица 6.8 - Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в густом экстракте плодов сенны александрийской

n	*f*	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	*ΔX*	*E, %*
11	10	10,20	0,2013	95	2,23	±0,45	±4,40

6.5. Разработка лекарственного препарата «Марены сироп»: способ получения и стандартизация

6.5.1. Технология изготовления сиропа марены

Изготовление сиропа в лабораторных условиях начинали с получения отвара из корней марены красильной с использованием соотношения «сырье - экстрагент» (1:8). Первый образец отвара готовили фармакопейным методом [52, 56]: известное количество сырья заливали определенным количеством воды очищенной комнатной температуры, нагревали на кипящей водяной бане 30 мин, охлаждали и фильтровали. С целью сравнения влияния жесткого нагрева на выход антраценпроизводных из сырья и их стабильность, во втором случае водное извлечение (1:8) получали кипячением в течение 15-20 мин на плитке сырья в определенном объеме воды очищенной с последующим охлаждением и фильтрованием.

Полученные водные извлечения из корней марены красильной использовали вместо воды очищенной для получения сахарных сиропов фармакопейным способом [52]. Для этого 36 г водных извлечений смешивали с 64 г сахара-рафинада и нагревали смесь до полного растворения сахара, доводили до кипения дважды, каждый раз снимая образующуюся при этом пену. Сиропы фильтровали через марлю в горячем виде и доводили до исходной массы водой очищенной.

6.5.2. Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Марены сироп» с помощью УФ-спектрофотометрии

С целью изучения УФ-спектров полученных сиропов в щелочно-аммиачной среде и количественного определения антраценпроизводных, точную навеску сиропа (2,0 г) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили водой до метки и перемешивали (исходный раствор). 2 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор). Испытуемый раствор нагревали в течение 15 мин

на кипящей водяной бане. После охлаждения снимали электронный спектр испытуемого раствора в диапазоне 190-700 нм. Для получения дифференциальных электронных спектров в качестве раствора сравнения использовали раствор, полученный следующим образом: 2,0 мл исходного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем водой очищенной до метки [321].

Для количественного определения антраценпроизводных в исследуемых образцах корней марены красильной использовали разработанную ранее методику (экстрагент – 80% этиловый спирт, соотношение «сырье – экстрагент» - 1:30, время экстракции – 90 мин) [321].

Исследование электронных спектров показало, что электронные спектры сиропа марены совпадают со спектрами извлечения из корней марены красильной, а максимум поглощения находится при 520±2 нм, что характерно и для щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из корней марены красильной (рис. 6.14). Следует отметить, что показательными для оценки подлинности являются дифференциальные спектры растворов (спектры испытуемых растворов на фоне раствора сравнения) (рис. 6.15) [321].

В длинноволновой области электронного спектра щелочно-аммиачного раствора франгулина А также наблюдается четкий максимум поглощения при 520+2 нм (рис. 6.16). Следовательно, в качестве аналитической длины волны может быть использовано значение 520 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид – руберитриновая кислота, причем в случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения ($E_{1см}^{1\%}$ =520) [321].

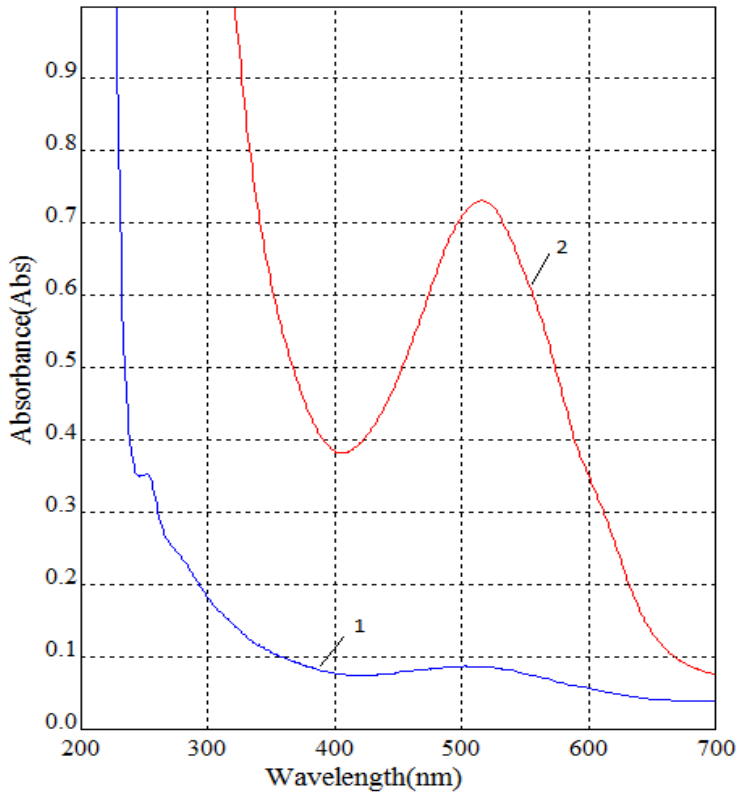


Рисунок 6.14 - Электронные спектры щелочно-аммиачного раствора сиропа марены (1) и щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из корней марены красильной (2)

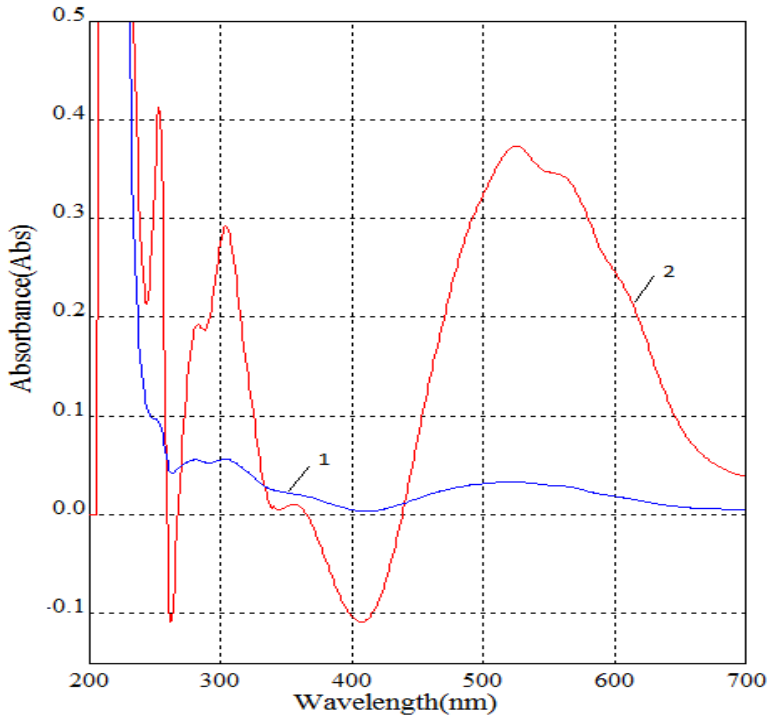


Рисунок 6.15 - Дифференциальные спектры щелочно-аммиачного раствора сиропа марены (1) и щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из корней марены красильной (2)

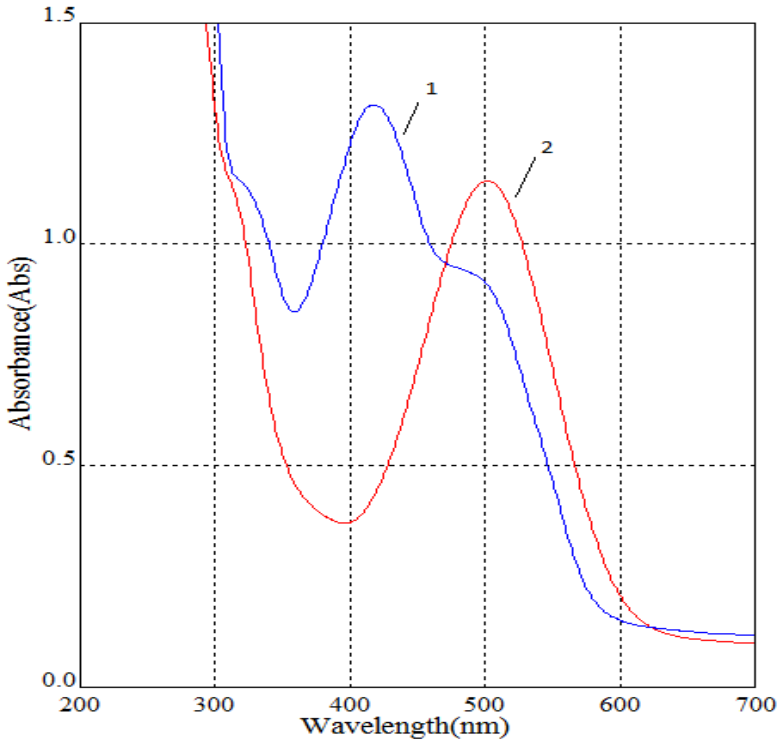


Рисунок 6.16 - Электронные спектры исходного раствора руберитриновой кислоты(1) и раствора руберитриновой кислоты в щелочно-аммиачной среде (2)

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе марены.

2,0 г сиропа (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем водой очищенной до метки и перемешивают (раствор А) [321].

2 мл раствора А вносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным в соответствии с ГФ СССР XI издания [52], и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 520 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

Примечание 1: *Приготовление раствора рабочего стандартного образца (РСО) руберитриновой кислоты.* Около 0,02 (точная навеска) руберитриновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А руберитриновой кислоты). 1 мл раствора А руберитриновой

кислоты помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора Б на спектрофотометре при длине волны 520 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную [321].

Содержание суммы антраценпроизводных (Х) в пересчете на руберитриновую кислоту в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * m_0 * 25 * 25 * 1 * 100}{D_0 * m * 2 * 50 * 25}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора РСО руберитриновой кислоты;

m – масса навески сиропа, г;

m_0 – масса РСО руберитриновой кислоты, г.

При отсутствии стандартного образца руберитриновой кислоты целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения – 520:

$$X = \frac{D \times 25 \times 25}{m \times 2 \times 520},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

520 – удельный показатель поглощения ($E_{1см}^{1\%}$) щелочно-аммиачного раствора РСО руберитриновой кислоты при 520 нм.

Содержание суммы антраценпроизводных в сиропе марены (пересчете на руберитриновую кислоту) варьирует от 0,02±0,001% до 0,025±0,001% [321].

Результаты статистической обработки проведенных опытов показывают, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сиропе марены с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,17% [321].

Метрологические характеристики метода количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе марены представлены в таблице 6.9 [321].

Таблица 6.9 - Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в сиропе марены

f	$\overline{X}$	*S*	*P, %*	*t (P,f)*	*ΔX*	*E, %*
10	0,025	0,00049	95	2,23	± 0,001	± 4,37%

С использованием данной методики были проанализированы полученные образцы сиропов корней марены красильной из отваров в соотношении 1: 7, 1: 8, 1: 9 (кипячение на плитке). Также был оценен выход антраценпроизводных в готовом продукте по отношению к их суммарному содержанию в исследуемых образцах лекарственного растительного сырья. Результаты представлены в таблице 6.10 [321].

Таблица 6.10 - Содержание суммы антраценпроизводных в различных образцах сиропа корней марены красильной в пересчете на руберитриновую кислоту

№ п/п	Отвар, из которого получен сироп	Содержание суммы антраценпроизводных в препарате пересчете на руберитриновую кислоту, %	Выход антраценпроизводных по отношению к их содержанию в исходном сырье, %
1	Отвар 1:7	0,022±0,001%	20,2±0,3%
2	Отвар 1:8	0,025±0,001%	46,3±0,4%
3	Отвар 1:9	0,023±0,001%	45,7±0,5%

Таким образом, в ходе исследования была разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе марены и обосновано использование отвара в соотношении 1:8 в качестве субстанции для получения сиропа [321].

6.6. Сравнительный качественный анализ лекарственных растительных препаратов, содержащих антрахиноны с помощью ИК-спектрометрии

В результате более углубленного изучения новых лекарственных препаратов, содержащих антрахиноны («Крушины сиропа», «Жостера сироп», «Сенны сироп», «Густой экстракт плодов сенны», «Марены сироп») проведен метод ИК-спектроскопии в целях сравнения и качественного анализа лекарственных препаратов [316, 317, 318, 319].

Сравнительное исследование компонентного состава лекарственных препаратов на основе коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, корней марены красильной, листьев и плодов сенны александрийской методом ИК-спектрометрии осуществляли с использованием веществ, выделенных из сырья данных растений, а именно: франгулин А (6-О-α-L-рамнопиранозид франгула-эмодина), 3-О-рутинозид рамнетина (3,5,3^1,4^1-тетрагидрокси-7-метоксифлавон), неореина (1,7-дигидрокси-3-карбокси-антрахинон), сеннозида В, руберитриновой кислоты идентифицированные на основе данных ЯМР-, УФ-, ИК- и масс-спектров [129, 131, 152, 156, 255].

Препараты, содержащие антрахиноны: «Крушины сироп», «Жостера сироп», «Сенны сироп», «Густой экстракт плодов сенны», «Марены сироп» анализировали методом ИК-спектрофотометрией (фурье-спектрометр инфрокрасный Nicolet iS5).

В ИК-спектрах антрагликозидов франгулина А, неореина, сеннозида В, руберитриновой кислоты в структуре которых имеются две карбонильные группы (С=О), обнаруживаются две характерные интенсивные полосы поглощения в области 1625-1620 $см^{-1}$. (рис. 6.17-6.24) [316, 317, 318, 319].

Интенсивная полоса поглощения в ИК-спектрах в области 3358 $см^{-1}$. обусловлена валентными колебаниями углеводных ОН-групп, что подтверждает гликозидную природу веществ. Аналогичная полоса поглощения наблюдается и в ИК-спектре флавоноида жостера слабительного (3-О-рутинозид рамнетиина), что также подтверждает гликозидную природу вещества (рис. 6.19) [316, 317, 318, 319].

В области 1400-1200 $см^{-1}$ ИК-спектров наблюдаются также полосы поглощения, характерные для фенольных соединений, в том числе антраценпроизводных и флавоноидов. В области 3100-3000 $см^{-1}$ ИК-спектров наблюдаются также полоса поглощения, обусловленная валентными колебаниями ароматических CH=CH (рис. 6.17-6.24) [316, 317, 318, 319].

В области 1625-1620 $см^{-1}$ ИК-спектра флавоноида жостера слабительного (3-О-рутинозид рамнетина), в отличие от антрагликозидов, наблюдается лишь одна интенсивная полоса поглощения, обусловленная карбонильной группой (рис. 6.19) [316].

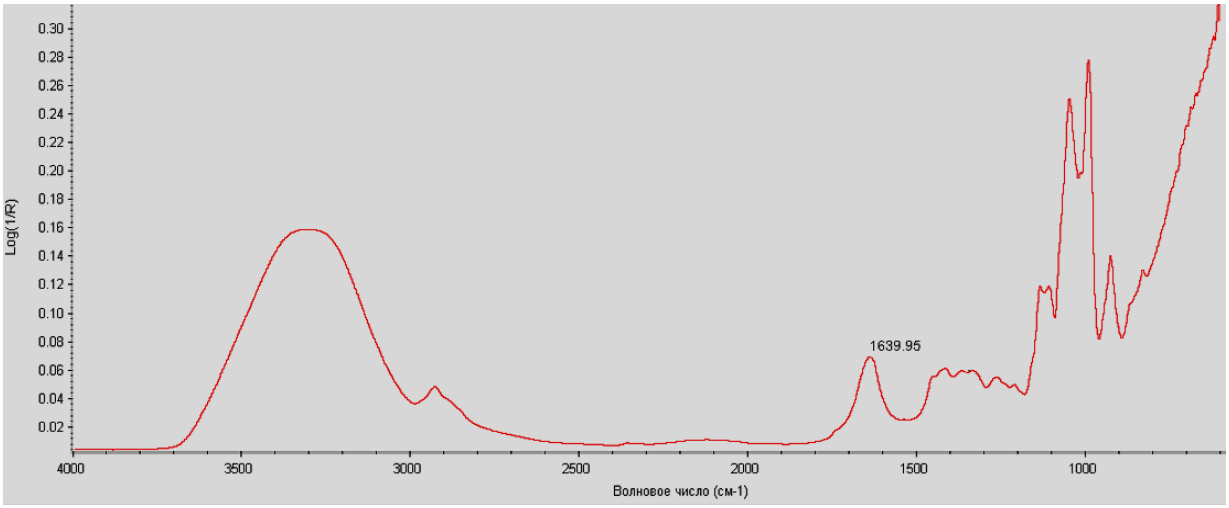


Рисунок 6.17 - ИК-спектр сиропа крушны

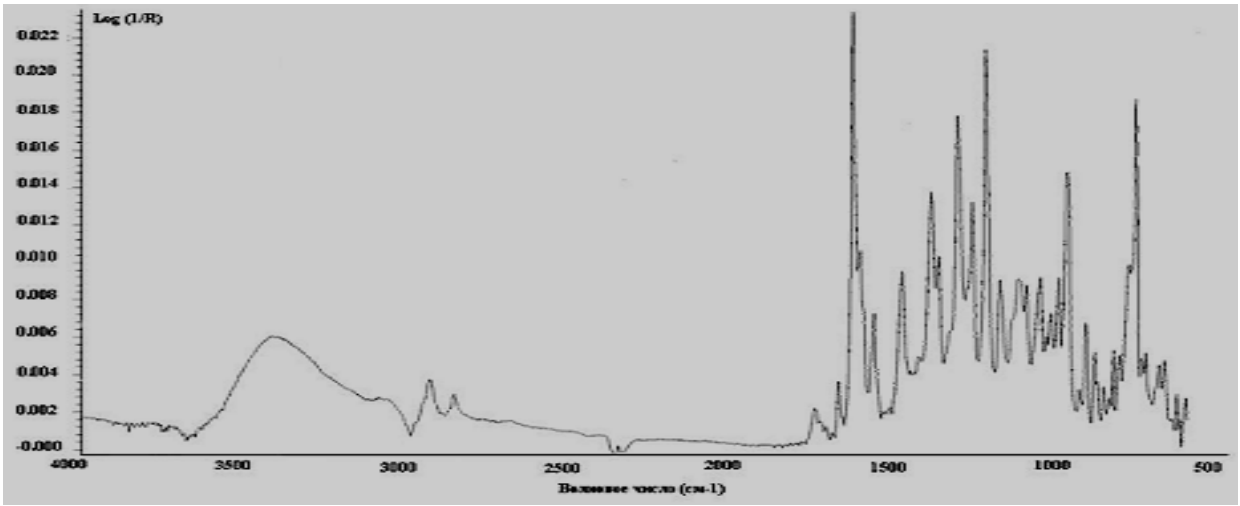


Рисунок 6.18 - ИК-спектр РСО Франгулина А

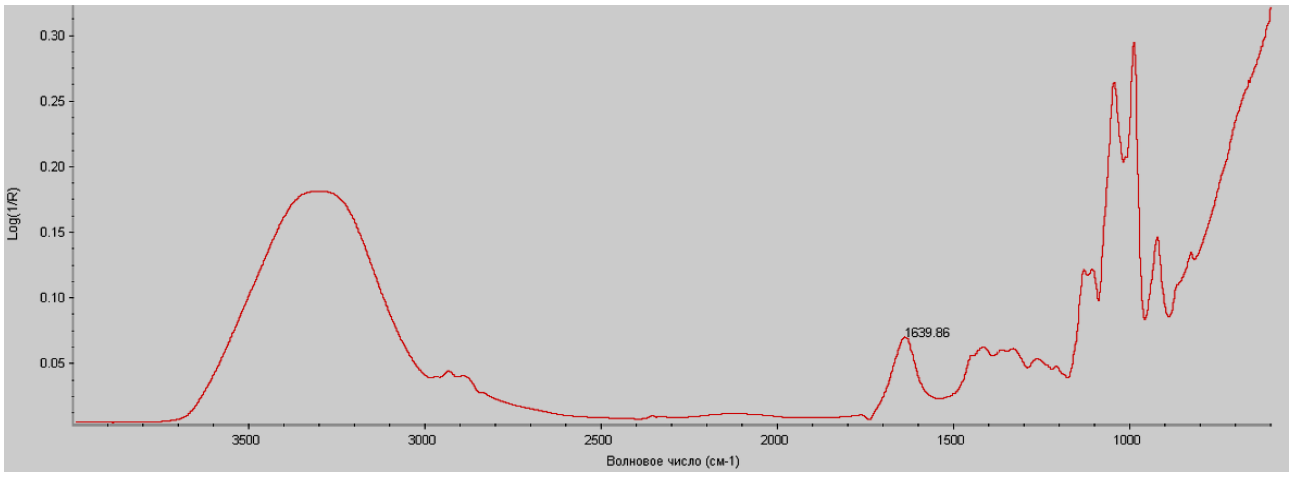


Рисунок 6.19 - ИК-спектр сиропа жостера

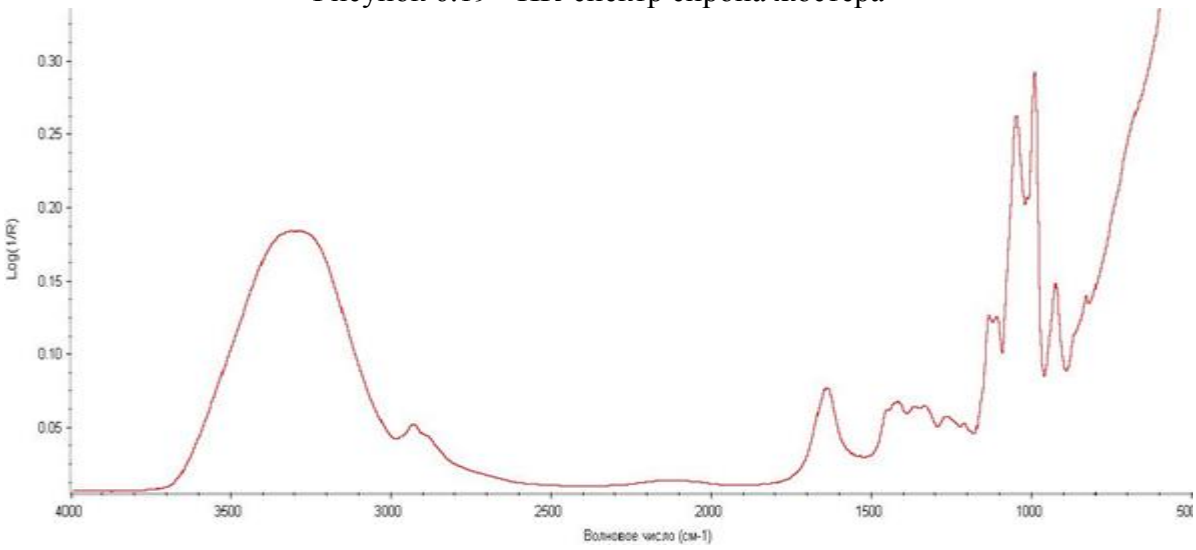


Рисунок 6.20 - ИК-спектр сиропа сенны

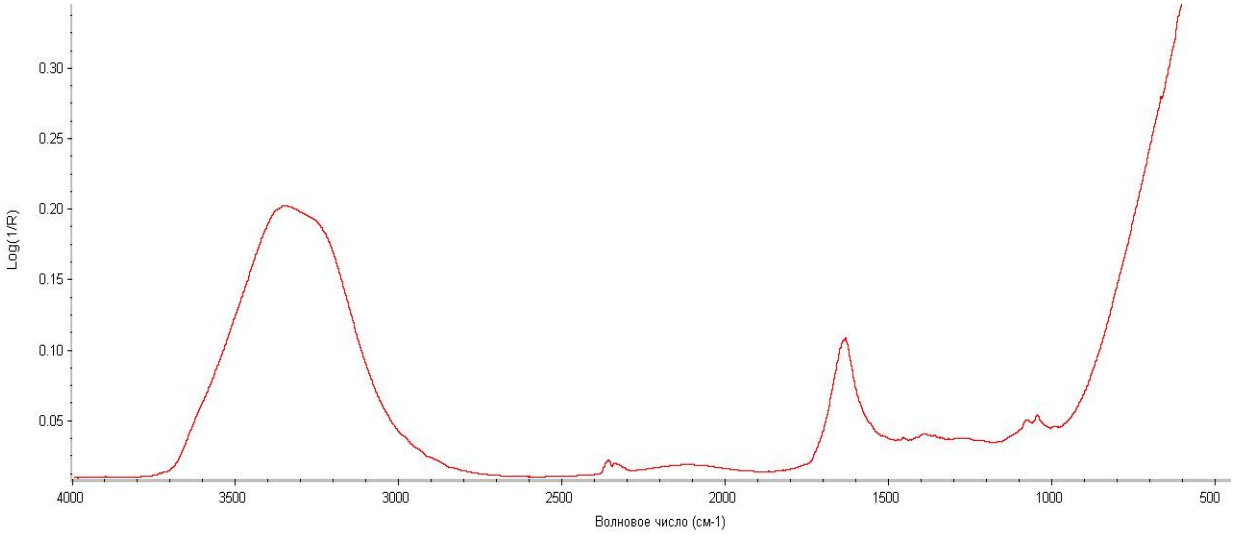


Рисунок 6.21 - ИК-спектр густого экстракта плодов сенны

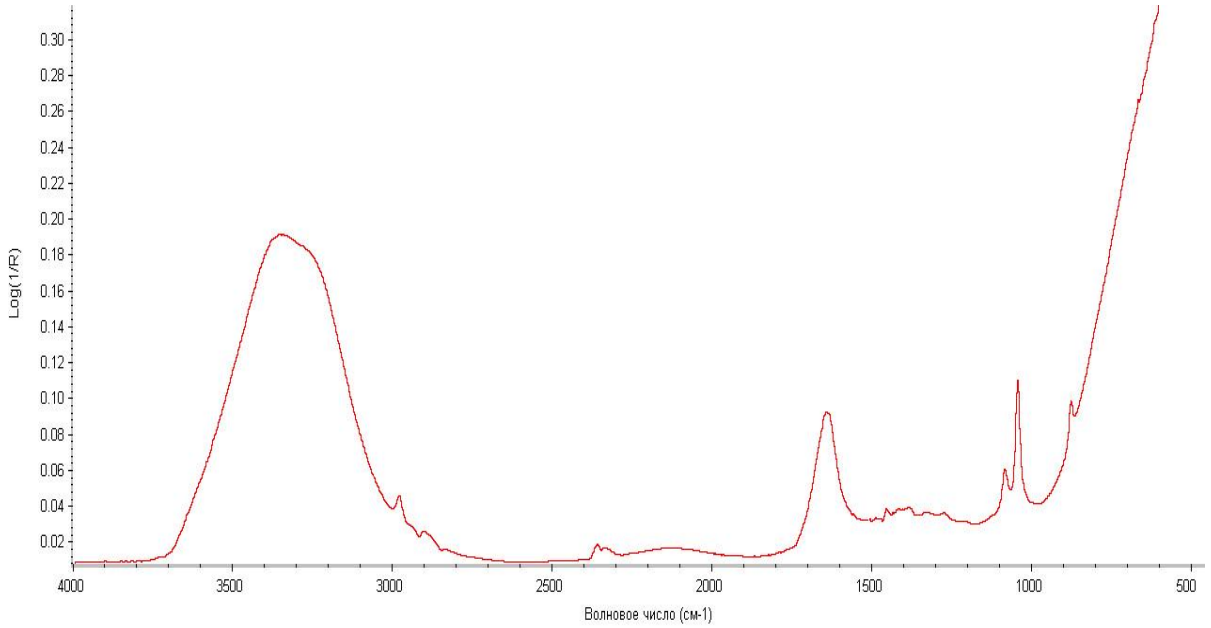


Рисунок 6.22 - ИК-спектр РСО сеннозида В

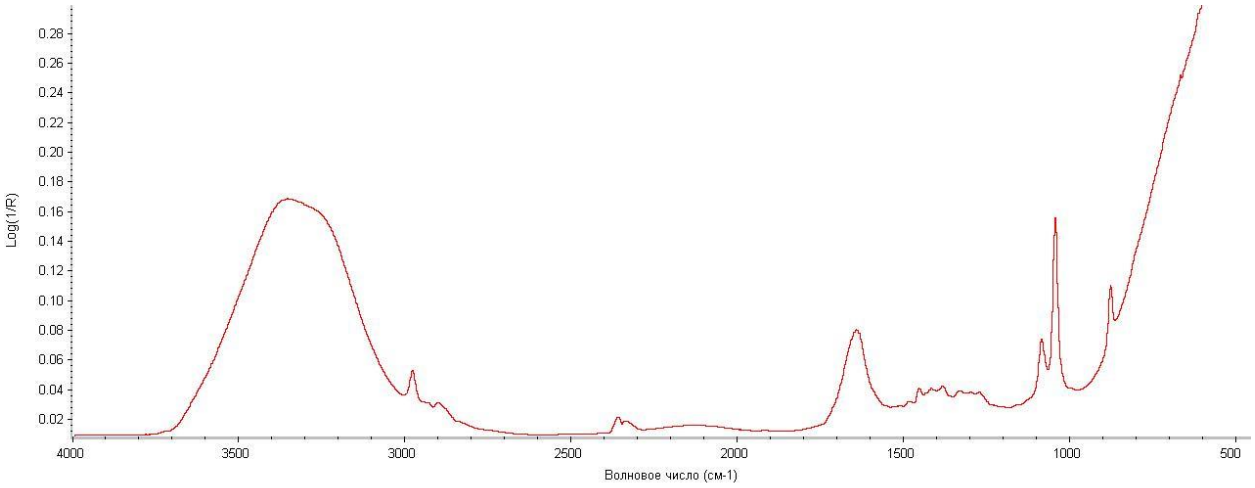


Рисунок 6.23 - ИК-спектр РСО руберитриновой кислоты

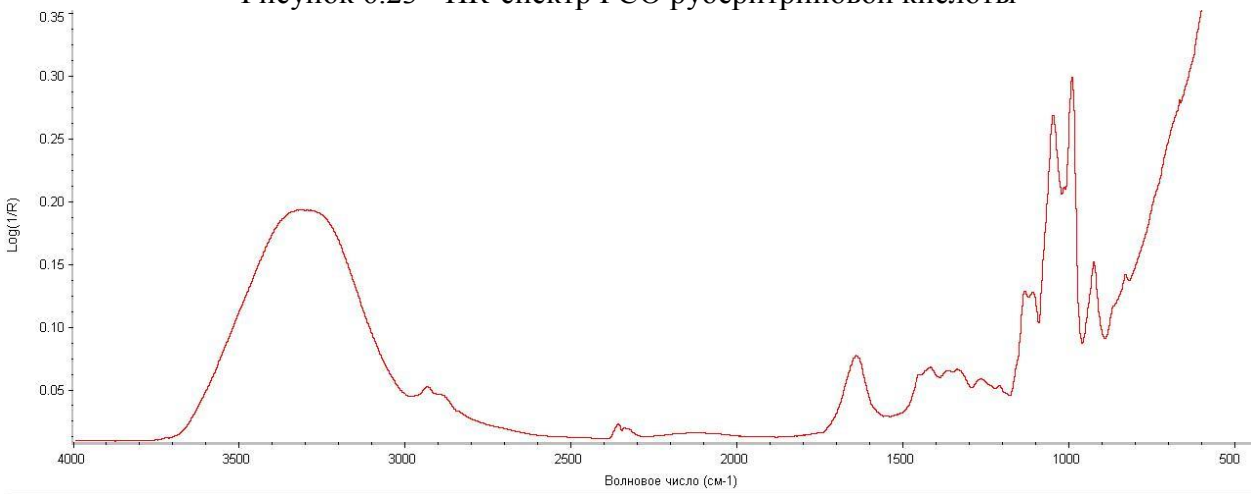


Рисунок 6.24 - ИК-спектр сиропа марены

В результате проведенного исследования препаратов: «Крушины сиропа», «Жостера сиропа», «Сенны сиропа», «Густого экстракта плодов сенны», «Марены сиропа» методом ИК-спектроскопии установлено, что в случае листьев сенны александрийской диагностическое значение имеют антрагликозиды - неореин, а в плодах сенны александрийской – антрагликозид реин. В марене красильной доминирует антрагликозид – руберитриновая кислота. На наш взгляд, полученные результаты ИК-спектрометрии могут быть использованы для целей стандартизации данных препаратов (раздел «Качественные реакции»).

6.7. Оценка перспективы использования высокоэффективной жидкостной хроматографии для анализа лекарственных растительных препаратов, содержащих антрахиноны

В ходе проведения исследований нами предпринята попытка изучить возможности использования высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для целей стандартизации лекарственных препаратов, содержащих антрахиноны.

Сравнительное исследование компонентного состава лекарственных препаратов на основе коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, корней марены красильной, листьев и плодов сенны александрийской методом ВЭЖХ осуществляли с использованием веществ, выделенных из сырья данных растений, а именно: франгулин А (6-О-α-L-рамнопиранозид франгула-эмодина), 3-О-рутинозид рамнетина (3,5,3^1,4^1-тетрагидрокси-7-метоксифлавон), неореина (1,7-дигидрокси-3-карбокси-антрахинон), сеннозида В, руберитриновой кислоты идентифицированные на основе данных ЯМР-, УФ-, ИК- и масс-спектров [129, 131, 152, 156, 255].

Лекарственные растительные препараты, содержащие антрахиноны анализировали методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на хроматографе (колонка Себсил, «Jasco») в изократическом режиме стационарная фаза – «Separon C-18», подвижная фаза – смесь ацетонитрила и воды в различных соотношениях с добавлением 1% ледяной уксусной кислоты, скорость потока – 0,5 мл/мин),

детекцией антраценпроизводных при аналитической длине волны λ_{max} 420 нм. Детекцию веществ проводили также при дополнительных длинах волн (260 нм) в целях выявления в анализируемых образцах других компонентов фенольной природы, в частности флавоноидов. Экспериментальным путем были подобраны условия хроматографирования: на используемой хроматографической колонке при скорости потока – 0,1 мл/мин и температуре окружающей среды 20 ^{o}C соотношение элюентов ацетонитрила и воды составляет 2:8 с добавлением 1% ледяной уксусной кислоты, объем пробы, вводимый в хроматограф, при этом составляет 2 мкл. Исследуемые препараты разводили в 20 % буффере Б (80 % ацетонитрил в 0,1 % водном растворе трифторуксусной кислоты) в соотношении 1:50 (20 мкл препарата в 1 мл 20 % буффера Б). После чего вносили в объеме 20 мкл на колонку ReproSil-Pur C18 300 ODS-3, 4.0 × 250 mm (“Dr. A. Marsch Ammerbuch-Entringen”, Germany) интегрированную в ВЭЖХ-систему “Knauer SmartLine” (Germany). Предварительно колонку уравновешивали 20 % буффером Б [323, 324].

Навеска чистого вещества (100 мкг) растворялась в 100 мкл смеси ацетонитрил-вода и в объеме 20 мкл наносилась на колонку. Интенсивность пика, его площадь далее являлись основой для расчета количества вещества в исследуемых пробах, путем соотнесения площадей соответствующих пиков [323, 324].

Исследование показало, что доминирующим антрагликозидом сиропа крушины и сиропа жостера является франгулин А (рис. 6.25, 6.27), время удерживания которого совпадает с РСО франгулина А (рис. 6.26). В отношении сиропа сенны и густого экстракта плодов сенны диагностируется сеннозид В (антрагликозид) (рис. 6.28, 6.30), время удерживания которого практически совпадает с таковым на хроматограмме сеннозида В (рис. 6.29). В случае сиропа марены красильной доминирует руберитриновая кислота (рис. 6.31), время удерживания которого практически совпадает с таковым на хроматограмме руберитриновой кислоты (рис. 5.32).

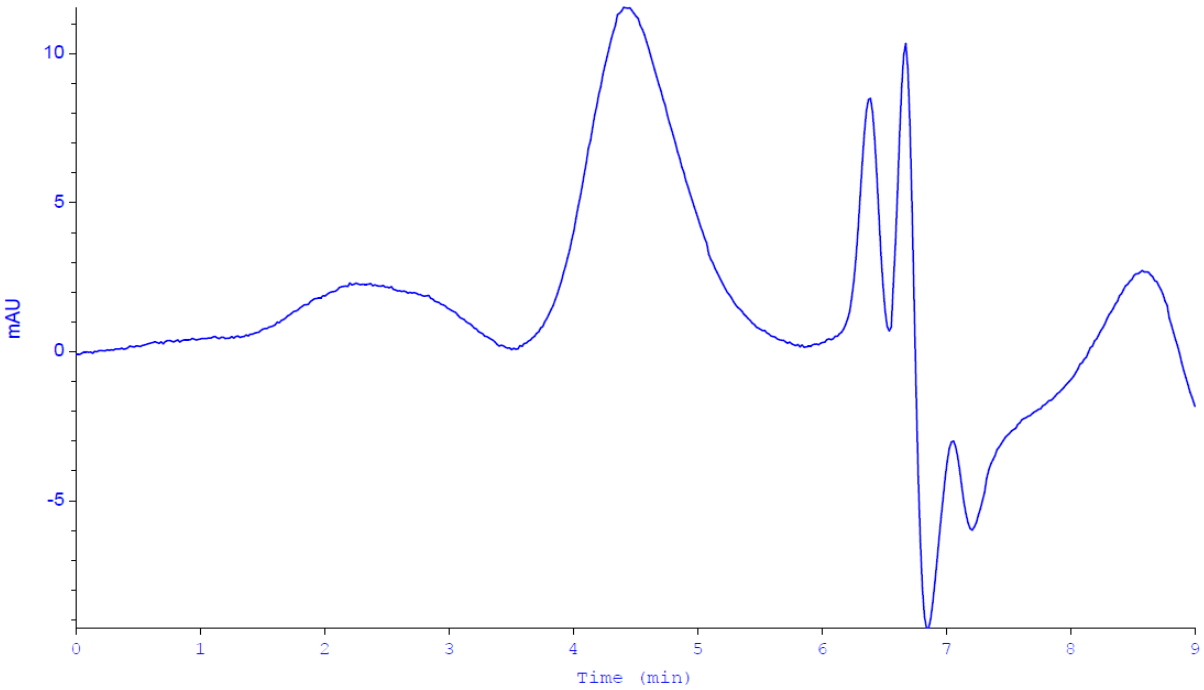


Рисунок 6.25 - ВЭЖХ сиропа крушины

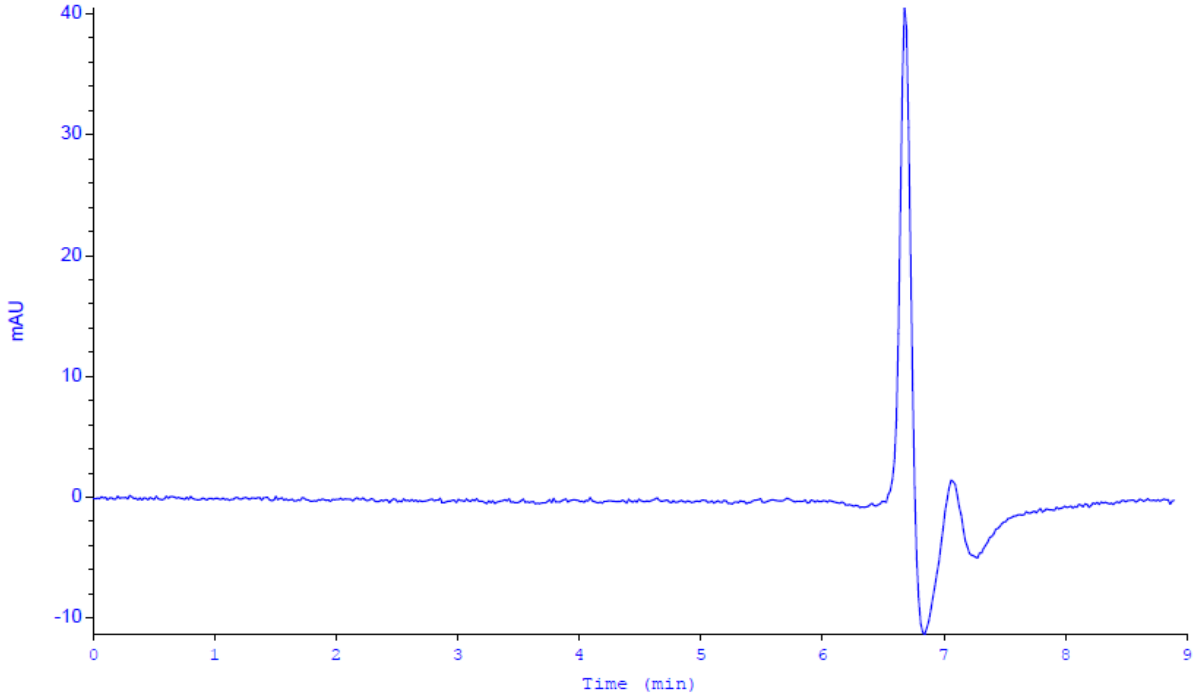


Рисунок 6.26 - ВЭЖХ РСО Франгулина А

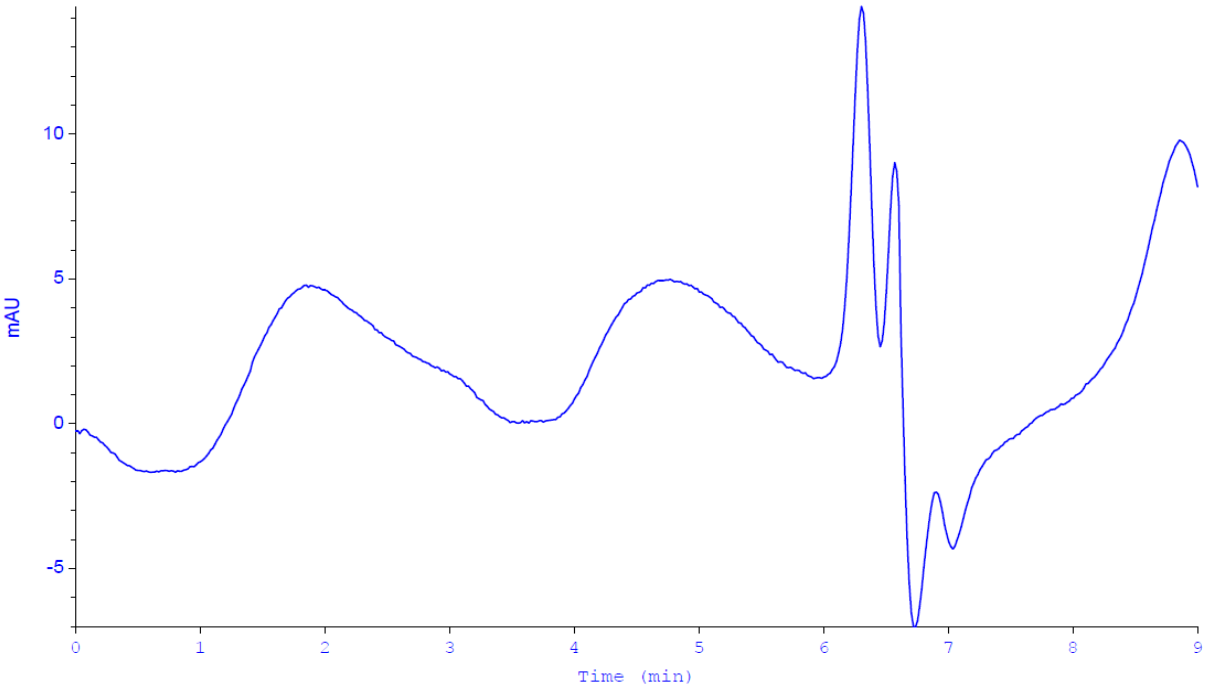


Рисунок 6.27 - ВЭЖХ сиропа жостера

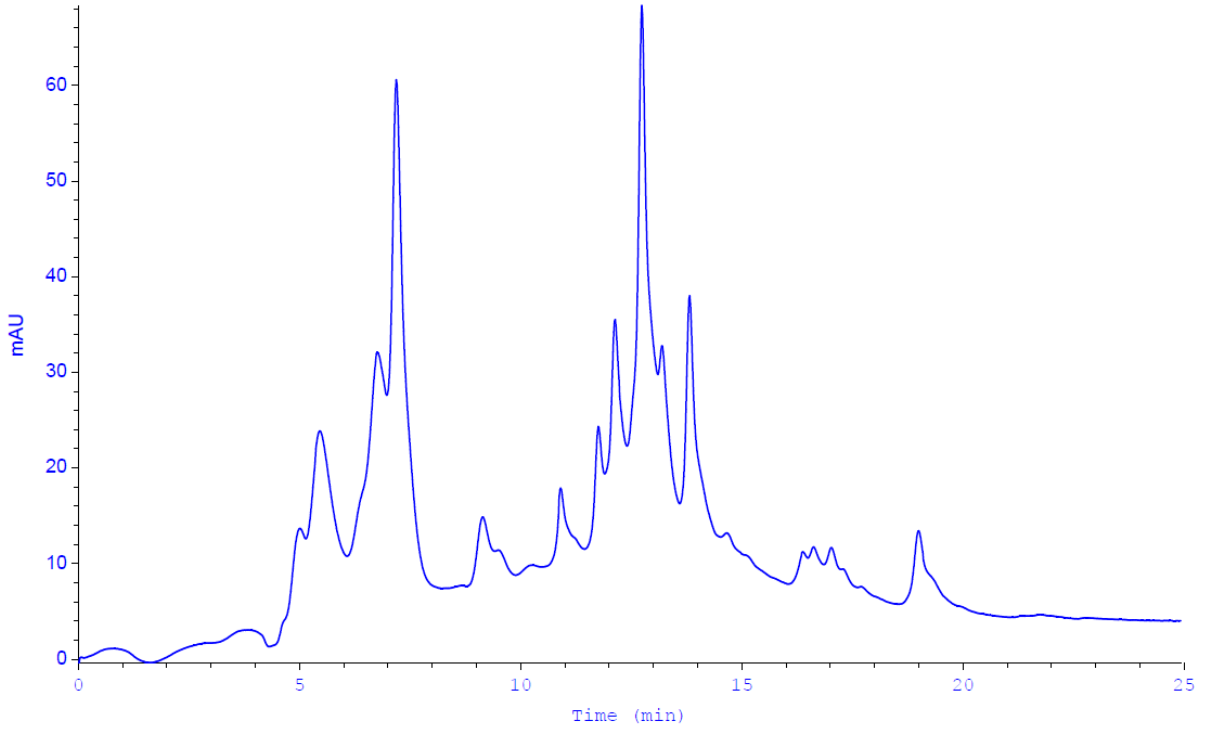


Рисунок 6.28 - ВЭЖХ сиропа сенны

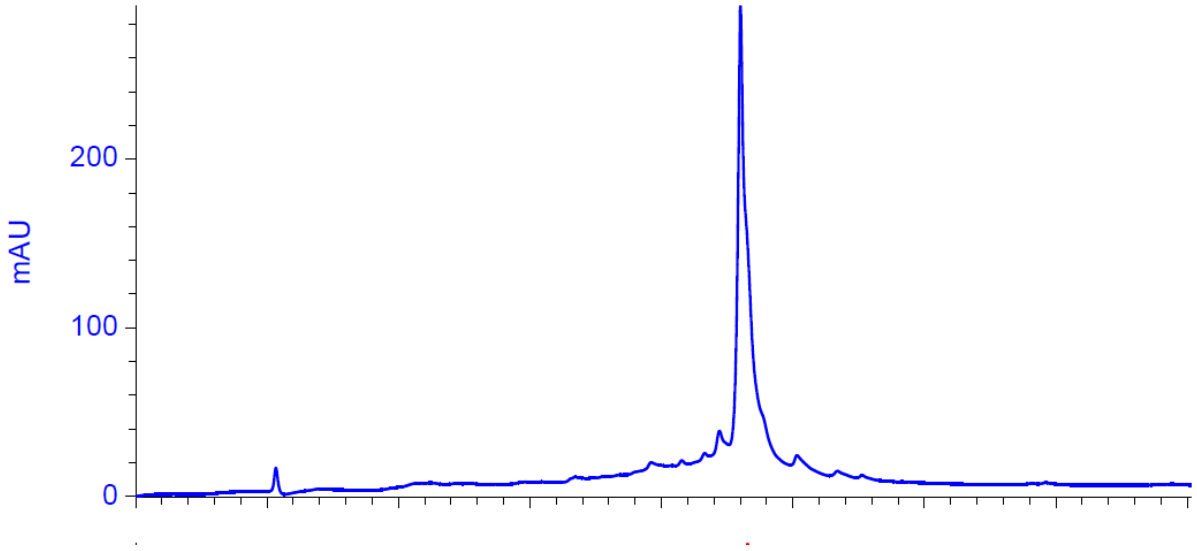


Рисунок 6.29 - ВЭЖХ РСО сеннозида В

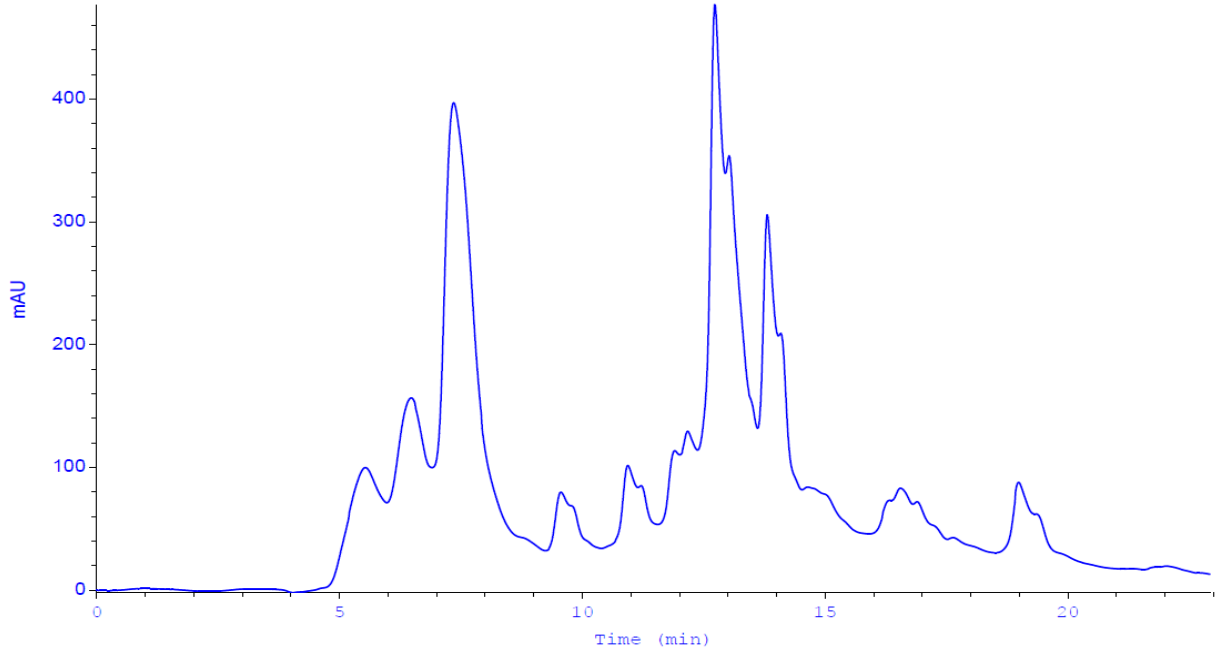


Рисунок 6.30 - ВЭЖХ густого экстракта плодов сенны

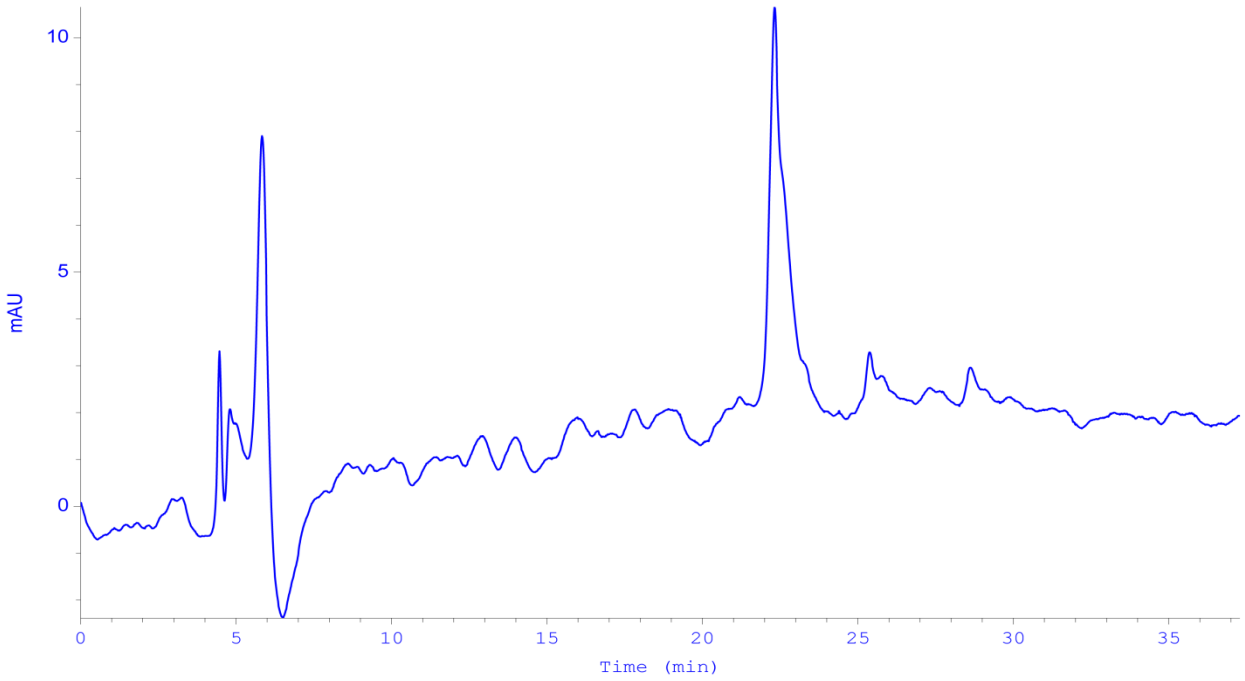


Рисунок 6.31 - ВЭЖХ сиропа марены

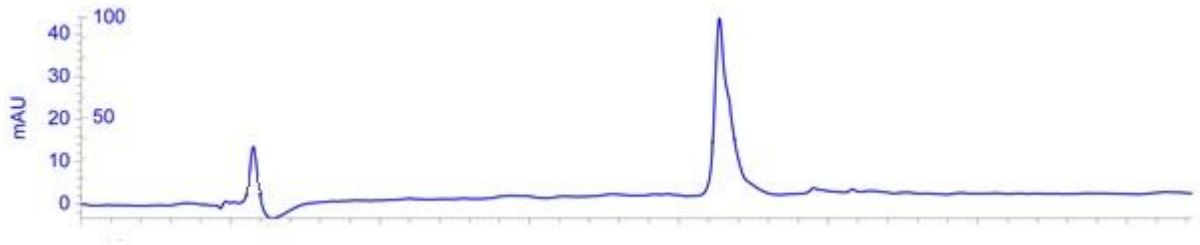


Рисунок 6.32 - ВЭЖХ РСО руберитриновой кислоты

Полученные результаты свидетельствует о перспективности метода ВЭЖХ как для качественного, так и для количественного анализа сырья марены красильной. Исследование спектров показало, что в препарате «Марены сироп» преобладающим антраценпроизводным является руберитриновая кислота.

Что же касается сырья сенны, метод ВЭЖХ возможно использовать исключительно в качественном анализе листьев и плодов сенны александрийской, так как содержание сеннозида В в сырье минимально.

6.8. Сравнительные доклинические исследования лекарственных препаратов: «Сироп Крушины», «Сироп жостера», «Сироп сенны», «Густой экстракт плодов сенны»

Изготовление сиропа в лабораторных условиях начинали с получения отвара из коры крушины и плодов жостера с использованием соотношения «сырье - готовый продукт» (1:3), листьев сенны с использованием соотношения «сырье - готовый продукт» (1:7). Объем экстрагента для получения заданного объема готового продукта определяли с учетом коэффициента водопоглощения, который составляет 1 мл/г (для сырья жостера слабительного), 2,2 мл/г (для сырья крушины ломкой) и 1 мл/г (для сырья сенны александрийской). Отвары готовили фармакопейным методом [51] известное количество сырья заливали определенным количеством воды очищенной комнатной температуры, нагревали на кипящей водяной бане 30 мин, охлаждали в течение 10 мин, фильтровали и доводили при необходимости полученный объем до необходимого соотношения «сырье – готовый продукт». С целью сравнения влияния жесткого нагрева на выход антраценпроизводных из сырья и их стабильность, в одном случае водное извлечение (1:3) получали кипячением в течение 15-20 мин на плитке сырья в определенном объеме воды очищенной, затем охлаждали в течение 10-15 мин и фильтровали. Полученный объем доводили до необходимого соотношения водой очищенной. Следует отметить, что в условиях экстракции, предусматривающей кипячение экстрагента, выход антраценпроизводных из сырья составляет около 50 %, тогда как в случае экстракции на водяной бане (по правилу приготовления отваров) выход действующих веществ достигает лишь 30 %. В этой связи для получения образцов сиропа крушины и сиропа жостера были отобраны образцы отваров, полученные с использованием кипячения [123, 124, 145, 296, 297, 320, 321].

Водные извлечения из коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного и листьев сенны использовали вместо воды очищенной для получения сахарных сиропов фармакопейным способом [51]. Для этого 36 г водных извлечений

смешивали с 64 г сахара-рафинада и нагревали смесь до полного растворения сахара, доводили до кипения дважды, каждый раз снимая образующуюся при этом пену. Сиропы фильтровали через марлю в горячем виде и доводили до исходной массы водой очищенной [51].

Для изготовления густого экстракта плодов сенны проводили экстрагирование разными методами (модифицированной мацерацией, перколяцией и реперколяцией) из навесок одной и той же выборки сырья, при одинаковых условиях, соотношение сырье – экстрагент 1:10. Извлечения представляли собой темную, мутную жидкость, а при отстаивании образовывался осадок. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 40 % (как показавший преимущества в фармакологических экспериментах). В результате проведенных исследований определены оптимальные условия изготовления густого экстракта плодов сенны александрийской: метод экстрагирования - перколяция, соотношение «сырье - экстрагент» – 1:10, экстрагент – спирт этиловый 40% [56].

Оценку слабительного эффекта проводили с помощью следующей методики. Белые беспородные крысы-альбиносы обоих полов массой 250 г., накормленные последний раз за 6 часов до эксперимента (стандартный рацион вивария), были помещены отдельно в клетки, застеленные чистой фильтровальной бумагой. Опытные и контрольные группы были составлены из 10 животных каждая. Исследуемые препараты вводили животным в опытных группах внутрижелудочно в объемах, эквивалентных дозировкам 5 мг/кг, 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг в пересчете на антраценпроизводные (табл. 6.11). В случае большого объема вводимых препаратов (более 8 мл) отвар, в том числе для приготовления сиропов, упаривали (табл. 6.11). Параллельно проводился контроль (вода – для изучения слабительного действия водных извлечений антраценсодержащих растений) [105, 111, 172, 209, 326, 332].

Через 18 часов после введения изучаемых образцов подсчитывалось общее количества фекалий от каждого животного всех анализируемых групп. Процент увеличения кала и доли влажных фекалий от их общего количества считался слабительным эффектом [105, 111, 209, 326, 332].

Полученные результаты свидетельствуют о выраженном слабительном действии фитопрепаратов как на основе коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного, так и на основе листьев сенны. Так, на фоне действия препаратов на основе коры крушины ломкой максимальный слабительный эффект достигается в дозе 50 мг/кг, что же касается препаратов на основе жостера слабительного и сенны александрийской, эффект достигается в значительно меньшей дозе (табл. 6.12). Аналогичная корреляция наблюдается и в случае образцов сиропа: максимальный слабительный эффект в случае крушины ломкой достигается в дозе 50 мг/кг, тогда как для жостера слабительного и сенны это значение составляет 25 мг/кг (табл. 12) [150, 151, 252].

Таблица 6.11 - Характеристика лекарственных препаратов на основе коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного и листьев сенны, вводимых животным

№№ п/п	Название лекарственного препарата	Содержание антраценпроизводных в пересчете на франгулин А или сеннозид В (сенна), в %	Объем вводимого препарата	Доза вводимого препарата в пересчете на антраценпроизводные
1.	Отвар крушины	0,38	-	5 мг/кг
			-	10 мг/кг
			1,6 мл	25 мг/кг
			3,3 мл	50 мг/кг
			3,3* мл	100 мг/кг
2.	Сироп крушины	0,37	-	5 мг/кг
			-	10 мг/кг
			1,7 мл	25 мг/кг
			3,4 мл	50 мг/кг
			3,4* мл	100 мг/кг
3.	Отвар жостера	0,16	0,78 мл	5 мг/кг

			1,5 мл	10 мг/кг
			3,9 мл	25 мг/кг
			7,8 мл	50 мг/кг
			7,8* мл	100 мг/кг
4.	Сироп жостера	0,16	-	5 мг/кг
			1,5 мл	10 мг/кг
			3,9 мл	25 мг/кг
			3,9* мл	50 мг/кг
			7,8* мл	100 мг/кг
5.	Отвар сенны	0,14	-	5 мг/кг
			1,7 мл	10 мг/кг
			4,5 мл	25 мг/кг
			4,45* мл	50 мг/кг
			8,9* мл	100 мг/кг
6.	Сироп сенны	0,08	-	5 мг/кг
			3,1 мл	10 мг/кг
			7,8 мл	25 мг/кг
			7,8* мл	50 мг/кг
			-	100 мг/кг
7.	Густой экстракт плодов сенны	10,20	0,014 г	5 мг/кг
			0,03 г	10 мг/кг
			0,04 г	15 мг/кг
			0,06 г	20 мг/кг
			0,07 г	25 мг/кг

Примечание: *Отвар предварительно упаривался.

Таблица 6.12 - Результаты изучения слабительного действия фитопрепаратов на основе коры крушины ломкой, плодов жостера слабительного и листьев сенны

№№ п/п	Название лекарственного препарата	Общая масса фекалий, г				
		Доза вводимого препарата (в пересчете на антраценпроизводные)				
		5 мг/кг	10 мг/кг	25 мг/кг	50 мг/кг	100 мг/кг
1.	Контроль (с водной нагрузкой 3 мл)	6,4367				
2.	Отвар крушины	-	-	9,4815	**13,3707**	4,2722
3.	Сироп крушины	-	-	6,3889	**11,3999**	7,7707
4.	Отвар жостера	8,1944	**13,6536**	8,1426	8,0348	7,4394
5.	Сироп жостера	-	12,8283	**13,3466**	13,3077	11,4198
6.	Отвар сенны	-	7,7029	**14,2852**	7,0498	7,2188
7.	Сироп сенны	-	13,2817	**15,5334**	9,998	-
8.	Густой экстракт плодов сенны	9,0867	10,6967	**11,2667**	10,7167	-

В ходе исследования выявлено выраженное слабительное действие отваров и сиропов, полученных из коры крушины ломкой *Frangula alnus* Mill., плодов жостера слабительного *Rhamnus cathartica* L. и листьев сенны *Senna alexandrina* Mill. Препараты плодов жостера слабительного и сенны александрийской (отвар и сироп) обладают более выраженным слабительным эффектом по сравнению с соответствующими препаратами коры крушины ломкой. Сироп крушины ломкой, сироп жостера слабительного и сироп сенны являются перспективными препаратами, обладающими выраженным слабительным действием, что позволяет

рекомендовать их для дальнейшего изучения в качестве слабительных средств [150, 151].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. На сегодняшний момент одной из самых широко используемых групп лекарственных препаратов, применяемых в коррекции функциональных нарушений деятельности пищеварительной системы, являются слабительные средства. В медицинской практике широко применяются лекарственные препараты на основе растительного сырья, содержащего антраценпроизводные.

2. Принимая во внимание то обстоятельство, что в ассортименте слабительных лекарственных растительных средств, представленных на фармацевтическом рынке РФ, преобладают зарубежные средства, актуальным является создание импортозамещающих препаратов слабительного действия, особенно такой лекарственной формы, как сироп, представленный лишь одним отечественным препаратов «Крушины сироп».

3. В результате проведенных исследований лекарственных средств разработаны способы получения новых лекарственных слабительных препаратов: «Крушины сиропа», «Жостера сироп», Сенны сироп» и «Марены сироп».

4. Разработаны методики качественного определения антраценпроизводных в новых лекарственных слабительных препаратах: «Крушины сироп», «Жостера сироп», Сенны сироп» и «Марены сироп» с использованием ИК-спектроскопии и ВЭЖХ.

5. Разработаны методики количественного определения антраценпроизводных в новых лекарственных слабительных препаратах: «Крушины сироп», «Жостера сироп», Сенны сироп» и «Марены сироп» с использованием УФ-спектроскопии. В ходе исследований научно обосновано использование в методиках количественного определения БАС стандартных образцов сеннозида В и руберитриновой кислоты для анализа соответствующих препаратов.

6. В ходе исследования выявлено выраженное слабительное действие отваров и сиропов, полученных из коры крушины ломкой плодов жостера

слабительного и листьев сенны. Препараты плодов жостера слабительного и сенны александрийской (отвар и сироп) обладают более выраженным слабительным эффектом по сравнению с соответствующими препаратами коры крушины ломкой. Сироп крушины ломкой, сироп жостера слабительного и сироп сенны являются перспективными препаратами, обладающими выраженным слабительным действием, что позволяет рекомендовать их для дальнейшего изучения в качестве слабительных средств.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведено сравнительное исследование морфолого-анатомических признаков образцов лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные – листьев и плодов сенны александрийской (*Senna alexandrina* Mill.), корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.), листьев и побегов алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.), корней марены красильной (*Rubia tinctorum* L.), порошка коры крушины ломкой (*Frangula alnus* Mill.), порошка плодов жостера слабительного (*Rhamnus cathartica* L.). В ходе микроскопических исследований были подтверждены основные анатомо-гистологические признаки, характерные для каждого вида сырья, а также выявлены дополнительные диагностические признаки: особенности анатомии и гистологии черешка листьев, стручка боба и семени сенны александрийской; особенности локализации антраценпроизводных и дубильных веществ в корнях ревеня тангутского, марены красильной; недостаточно сформировавшиеся алоиновые клетки у побегов алоэ древовидного, что также может быть использовано в целях идентификации и определения подлинности данных растений и сырья.

2. Результаты анатомо-гистологических исследований коры крушины ломкой и плодов жостера слабительного нашли свое отражение в Государственной Фармакопее Российской Федерации XIII издания (Крушины ольховидной кора – ФС.2.5.0021.15; Жостера слабительного плоды – ФС. 2.5.0014.15)

3. В результате изучения химического состава листьев сенны александрийской выделено 6 индивидуальных веществ (8-O-β-D-глюкопиранозид

торахризона (производное нафталина), кемпферол-3-О-гентиобиозид (флавоноид), антраценпроизводное, названное нами неореином, который является новым природным соединением и имеет строение 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинона, реин (антрахинон), торахризон (производное нафталина), кемпферол (флавоноид); из плодов сенны александрийской выделено 6 индивидуальных веществ (изорамнетин-3-О-гентиобиозид (флавоноид), кемпферол-3-О-гентиобиозид (флавоноид), 1,8-дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (реин), сеннозид В (антрагликозид), сеннидин (антрахинон) и изорамнетин (флавоноид); из корней марены красильной выделено 1 индивидуальное вещество (руберитриновая кислота); из коры крушины ломкой и плодов жостера слабительного выделено 5 основных индивидуальных веществ, 4 из них относятся к антраценпроизводным (франгулин А, франгулин В, 1-О-β-D-глюкопиранозид эмодина эмодин), одно выделенное вещество относится к флавоноидам (3-О-рутинозид рамнетина).

4. Разработаны методики качественного и количественного определения антраценпроизводных в сырье сенны александрийской, марены красильной с использованием ИК-, УФ-спектроскопии, ВЭЖХ, ТСХ. Для сырья вышеперечисленных лекарственных растений обоснован числовой показатель «Содержание суммы антраценпроизводных, который рекомендован для включения проекты фармакопейных статей на листья и плоды сенны александрийской и корневищ марены красильной.

5. Разработаны методики количественного определения антраценпроизводных в сборах «Тростинка», «Проктофитол», «Lux», «Сибирская ласточка экстра», «Аэлит», «Фаворит», «Эффект», «Слабительный», «Для похудения» «Комфорт», «Для очищения организма», а также в лекарственных препаратах «Сенаде», «Сенадексин», «Крушины экстракт таблетки» с использованием УФ-спектрометрии.

6. В результате проведенных исследований лекарственных средств разработаны способы получения новых лекарственных слабительных препаратов:

«Крушины сиропа», «Жостера сироп», «Сенны сироп», «Марены сироп», «Густой экстракт плодов сенны».

7. Разработаны методики качественного определения антраценпроизводных в новых лекарственных слабительных препаратах: «Крушины сироп», «Жостера сироп», «Сенны сироп», «Марены сироп», «Густой экстракт плодов сенны» с использованием ИК-спектроскопии и ВЭЖХ.

8. Разработаны методики количественного определения антраценпроизводных в новых лекарственных слабительных препаратах: «Крушины сироп», «Жостера сироп», «Сенны сироп», «Марены сироп», «Густой экстракт плодов сенны» с использованием УФ-спектрометрии. В ходе исследований научно обосновано использование в методиках количественного определения БАС стандартных образцов сеннозида В и руберитриновой кислоты для анализа соответствующих препаратов.

9. В ходе исследования выявлено выраженное слабительное действие отваров и сиропов, полученных из коры крушины ломкой плодов жостера слабительного и листьев сенны. Препараты плодов жостера слабительного и сенны александрийской (отвар и сироп) обладают более выраженным слабительным эффектом по сравнению с соответствующими препаратами коры крушины ломкой. Сироп крушины ломкой, сироп жостера слабительного и сироп сенны являются перспективными препаратами, обладающими выраженным слабительным действием, что позволяет рекомендовать их для дальнейшего изучения в качестве слабительных средств.

Практические рекомендации:

Разработанные методологические подходы к стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего антрагликозиды, а также методики качественного и количественного анализа сырья исследуемых лекарственных растений вошли в проекты фармакопейных статей на ЛРС для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации. Предложенные алгоритмы фармакопейного анализа могут быть использованы при разработке методик качественного и количественного определения антраценпроизводных в других

видах ЛРС. Разработанные методики анализа ЛРС, содержащего антрагликозиды, могут быть адаптированы для анализа лекарственных растительных препаратов, содержащих антрагликозиды.

Результаты диссертационной работы позволяют усовершенствовать подходы к стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, и могут быть использованы в учебном процессе по курсам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия», а также в центрах сертификации и контроля качества лекарственных средств и на фармацевтических предприятиях, специализирующихся в области стандартизации и создания лекарственных растительных препаратов.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Предложенные методологические подходы к разработке методик стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего антрагликозиды, могут быть реализованы с целью совершенствования методик качественного и количественного определения антраценпроизводных с использованием современных физико-химических и спектральных методов. На основе принципа гармонизации методик стандартизации в ряду: «лекарственное растительное сырье - лекарственный растительный препарат – лекарственная форма» актуальными являются унификация методик анализа и научное обоснование такового числового показателя, как содержание биологически активных веществ в ЛРС и лекарственных растительных препаратах. Результаты структурных исследований антраценпроизводных с использованием современных физико-химических и спектральных методов создают методологическую основу для изучения биологически активных соединений ЛРС и лекарственных растительных субстанций. Проведение диссертационного исследования имеет научно-практическое значение для фармакогнозии и фармацевтической химии, в том числе с целью дальнейшего изучения химического состава лекарственных растений, содержащих антрагликозиды.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

БАВ – биологически активные вещества

БАС – биологически активные соединения

ВФС – временная фармакопейная статья

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГСО – государственный стандартный образец

ГФ – Государственная Фармакопея

ДСК – диазобензолсульфокислота

НД – нормативная документация

ЛП – лекарственный препарат

ЛР – лекарственное растение

ЛРП – лекарственный растительный препарат

ЛРС – лекарственное растительное сырье

ЛС – лекарственное средство

ЛФ – лекарственная форма

ОФС – общая фармакопейная статья

РСО – рабочий стандартный образец

СО – стандартный образец

ТСХ – тонкослойная хроматография

УФ-спектр – ультрафиолетовый спектр

ФС – фармакопейная статья

ФСП – фармакопейная статья предприятия

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Абаимов, В.Ф. Дендрология / В.Ф. Абаимов. – Оренбург: Издательский центр ОГАУ, 2005. - С. 302-303.

2. Агафонов, А.Д. Организация заготовок дикорастущих плодов, ягод, грибов и лекарственных трав / А.Д. Агафонов, Б.В. Андрест. - М., 1975. – С. 82-83; С. 97.

3. Акопов И.Э. Важнейшие отечественные лекарственные растения и их применение / И.Э. Акопов. - Ташкент: Медицина, 1986. - 566 с.

4. Алькевич, Е.Л. Определение биологической ценности растительных масел / Е.Л. Алькевич // Медицинский журнал. - 2009. - №2. - С. 23-25.

5. Андреева, И.И. Ботаника. / И.И. Андреева, Л.С. Родман. – 2-ое изд. перераб. и доп. – М.: КолосС, 2002. – 488 с.

6. Андреев, С.З. Дикорастущие лекарственные растения Смоленской области / С.З. Андреев, В.А. Баринов // Московский рабочий. - 1974. - С. 40-41.

7. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР. - М., 1980. - С.239. С.253.

8. Атлас лекарственных растений России / под ред. В. А. Быкова. - М.:, 2006. - 345 с.

9. Атлас и определитель плодов и семян, встречающихся в четвертичных отложениях СССР. / Н.Я. Кац, С.В. Кац, М.Г. Кипиани. - М., Наука, 1965.

10. Атлас по анатомии растений: Учеб. Пособие для вузов/ Г.А. Бавтуто, В.М. Еремин, М.П. Жигар (учеб. и учеб. пособия для вузов). - Мн.: Ураджай, 2001. - 146 с.

11. Атлас по описательной морфологии высших растений. Плод. / З.Т. Артюшенко, А.А. Федоров. - Ленинград: Наука, 1986. - 300 с.

12. Атлас по описательной морфологии высших растений. Семя. / З.Т. Артюшенко. - Ленинград: Наука, 1990. - 287 с.

13. Атлас «Фармакогнозия» / И.А. Самылина, В.А. Ермакова, Н.В. Бобкова, О.Г. Аносова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. - Т. 3. - С. 258-261.

14. Ареалы деревьев и кустарников СССР. В трех томах, Т.1 / Соколов С.Я., Связева С.А., Кубли В.А., при участии Сворцова А.К., Грузинской И.А., Огуреевой Г.Н. Л.: «Наука», Ленинградское отд., 1977. - С. 48 - 76, 76 - 85.

15. Арзамасцев, А.П. Основные аспекты совершенствования фармакопейного анализа / А.П. Арзамасцев, В.Л. Багирова, НП. Садчикова // Хим.- фарм. журн. – 2000. – Т.34, № 5. - С.47-48.

16. Арзамасцев, А.П. Валидация аналитических методов / А.П. Арзамасцев, Н.П. Садчикова, ЮЯ. Харитонов // Фармация. – 2006. – Т. 54, № 4. - С.8-12.

17. Астахова, А.В. Лекарственные травы и биологически активные добавки / А.В. Астахова // Безопасность лекарств. - 2000. - № 1. - С. 83-95.

18. Ахрем, А.А. Тонкослойная хроматография / А.А. Ахрем, А.И. Кузнецова. - М.: Наука, 1964. - 153 с.

19. Багирова, В.Л. О стандартизации лекарственных средств на современном этапе / В.Л. Багирова, Е.Л. Ковалева, Н.П. Садчикова // Хим.-фарм. журнал. - 2000. - Т. 34, № 5. - С. 47-48.

20. Баранов, П.А. Атлас по описательной морфологии высших растений. Стебель и корень / П.А. Баранов. - Москва-Ленинград: Издательство академии наук СССР, 1962. - 353 с.

21. Беликов, В.В. Химизм комплексообразования флавоноидов с хлоридом алюминия / В.В. Беликов // Тезисы Четвертого Всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям. – Ташкент, 1982. - С. 11-34.

22. Беленький, Б.Г. Тонкослойная хроматография. В кн.: Успехи хроматографии. К 100-летию со дня рождения М.С. Цвета / Б.Г. Беленький. - М., 1972. – С. 134-162.

23. Березовская, Т.П. Методы микроскопического анализа ботанических объектов / Т.П. Березовская, Н.В. Дощинская, Е.А. Серых. – Томск, 1978. – 113 с.

24. Бородина, Н.А. Деревья и кустарники СССР / Н.А. Бородина, В.И. Некравов, Н.С. Некрасова. – Москва, 1966. – 479 с.

25. Ботанико-фармакогностический словарь: Справ, пособие / К.Ф. Блинова, Н.А. Борисова, Г.Б. Гортинский и др.; Под ред. К.Ф. Блиновой, Г.П. Яковлева. - М.: Высш. шк., 1990. - 272 с.

26. Бреднева, Н. Маркетинговые исследования потребителей биологически активных добавок / Н. Бреднева, В. Тихонова // Ремедиум. - 2005. - N 3. - С. 54-56.

27. Брезгин, Н.Н. Лекарственные растения Верхневолжья / Н.Н. Брезгин. – Ярославль: Верхнее Волжское книжное издательство, 1984. – 320 с.

28. Быков, В.А. Фармацевтическая технология: руководство к лабораторным занятиям: учеб. Пособие / В.А. Быков, Н.Б. Демина, С.А. Скатков, М.Н. Анурова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 304 с.

29. Валягина-Малютина, Е.Т. Деревья и кустарники зимой. Определитель древесных и кустарниковых пород по побегам и почкам в безлистном состоянии / Е.Т. Валягина-Малютина. - М.: издательство КМК, 2001. - С. 196-197.

30. Васильев, В.П. Аналитическая химия. В 2-х ч. Ч II. Физико-химические методы анализа. Учебник для химико-технол. спец. вузов / В.П. Васильев. – М.: Высшая школа, 1989. – 384 с.

31. Вдовина, Э.В. Обоснование ресурсосберегающих технологий получения лекарственных средств на основе кассии / Э.В. Вдовина, В.А. Куркин, Е.В. Муркина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2012. – Т. 14, №1(9). – С. 2191-2194.

32. Вопросы диагностики и лечения запоров: Методические рекомендации Минздрава РСФСР. - Москва, 1976. – 16 с.

33. Выделение и анализ природных биологически активных веществ / Под ред. Сироткиной Е.Е. – Томск.: Изд. Томского университета, 1987. – 184 с.

34. Высокоэффективная тонкослойная хроматография / А. Златкиса и Р.Е. Кайзера (пер. с англ. под ред. д.х.н., проф. В.Г. Березкина). – М.: Мир, 1979. – 245 с.

35. Гаврилюк И.И. Тонкослойная хроматография некоторых растительных объектов. В кн.: Прикладная хроматография / И.И. Гаврилюк - М.: Наука, 1984. - 294 -302 с.

36. Гаммерман, А.Ф. Лекарственные растения (растения-целители): Справочник пособие. – 3-е изд., переработка и дополнение / А.Ф. Гаммерман, Г.Н. Кадаев, А.А. Яценко-Хмелевский – М.: Высшая школа, 1984. - 400 с.

37. Гаммерман, А.Ф. Дикорастущие лекарственные растения СССР / А.Ф. Гаммерман, И.И. Гром. - М., 1976. – 288 с.

38. Геккелер К. Аналитические и препаративные лабораторные методы / Х. Экпггайн, К. Геккелер. - М.: Химия, 1994. - 409 с.

39. Георгиевский, В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комисаренко, С.Е. Дмитрук. - Новосибирск: Наука, Сибирское отд., 1990. – 333 с.

40. Георгиевский, В.П. 50 лет тонкослойной хроматографии / В.П. Георгиевский, Ю.В. Шостенко // Фармация. – 1989. – Т. 38, № 3. – С. 86-87.

41. Георгиевский, В.П. Физико-химические методы анализа биологически активных веществ растительного происхождения / В.П. Георгиевский, Н.А. Казаринов, М.О. Каррыев. – Ашхабад: Ылым, 1976. – 239 с.

42. Герсамия В. Новые лекарственные средства из растительного сырья ГССР и их терапевтическое значение / В. Герсамия. - Тбилиси, 1957. - 152 с.

43. Гланц, С.А. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. / С.А. Гланц. - М.: Практика, 1999. - 459 с.

44. Глущенко, С.Н. Сравнительный анализ номенклатуры группы растительных лекарственных средств, на основе алоэ древовидного, представленных на российском рынке / С.Н. Глущенко, А.А. Шмыгарева // VIII Международная научно-практическая конференция «Современные технологии в мировом научном пространстве». – Казань, 2016. - С. 166-169.

45. Глущенко, С.Н. Сравнительный качественный анализ листьев алоэ древовидного (Aloe Arborescens L.) и листьев алоэ пестрого (Aloe Variegata L.) / С.Н. Глущенко, А.А. Шмыгарева // I Межвузовская студенческая научно-практическая конференция «Современные проблемы фармакогнозии». – Самара, 2016. - С. 78-82.

46. Головкин, Б.И. Биологически активные вещества растительного происхождения: в 3 т. / Б.И. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова / отв. ред. В.Ф. Семихов. - М.: Наука, 2001. - 350 с.

47. Голышенков, П.П. Лекарственные растения и их использование. / П.П. Голышенков. – Саранск: Мордовское книжное издательство, 1982. – 312 с.

48. Голышенков, П.П. Лекарственные растения и их использование / П.П. Голышенков. – Саранск: Мордов. Кн. Изд. Управление по печати при Совете Министров МАССР, 1971. – 380 с.

49. Государственный реестр лекарственных средств. - Т. 1. Официальное издание. – М.: ООО «Информационно-издательское агентство «Ремедиум», 2008. - 1398 с.

50. Государственная Фармакопея СССР X издания. – М.: Медицина, 1968. – С.1080.

51. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье/ МЗ СССР. 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1987. - 336 с.

52. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье/ МЗ СССР. 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1989. - 400 с.

53. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. Т. 3. Контроль качества фармацевтических субстанций / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии им. В. Хоружей, 2009. – 727 с.

54. Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 1. - Алматы: Издательский дом «Жибек жолы», 2008. - 592 с.

55. Государственная фармакопея Российской Федерации: Вып. 1. / МЗ РФ. 13-е изд. - М.: Медицина, 2015. - 1470 с.

56. Государственная фармакопея Российской Федерации: Вып. 2. / МЗ РФ. 13-е изд. - М.: Медицина, 2015. - 1004 с.

57. Государственная фармакопея Российской Федерации: Вып. 3. / МЗ РФ. 13-е изд. - М.: Медицина, 2015. - 1294 с.

58. Государственный реестр лекарственных средств. Т.1 (официальное издание по состоянию на 1 февраля 2002 г.). - М.: Минздрав РФ, 2002. - С.196.

59. Гоциридзе, А.В. Содержание антрахинонов в коре видов крушины и жостера, произрастающих в Грузии / А.В. Гоциридзе, Э.П. Кемертелидзе // Растительные ресурсы. - 1977. - Т. 13, вып. 1. - С. 64-68.

60. Гриффит В. Витамины, травы, минералы и пищевые добавки: Справочник / В. Гриффит. - М.: Фаир-пресс, 1990. - 280 с.

61. Губанов, И.А. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Том 3: покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные) / И.А. Губанов, К.В. Киселева, В.С. Новиков, В.Н. Тихомиров. – М.: Т-во научных изданий КМК, Ин-т технологических исследований, 2004. – 520 с.

62. Губен, И. Методы органической химии. Т. 3, вып. третий. Перев. с нем. / И. Губен. – М..: Главная редакция химической литературы, 1935. – с. 240 -296.

63. Дайронас, Ж.В. Природные нафтохиноны: перспективы медицинского применения / Ж.В. Дайронас, И.Н. Зилфикаров – МО, Щёлково: Издатель Мархотин П.Ю., 2011. – 252 с.

64. Данилов, Н.В. Идентификация и количественное определение антраценпроизводных в корнях щавеля конского / Н.В. Данилов, К.В. Беляков, Д.М. Попов // Фармация. – 2000. - №5-6. - С. 26-28.

65. Дерффель, К. Статистика в аналитической химии / К. Дерффель. – М.: Мир, 1994. – С. 248.

66. Дикорастущие полезные растения России / А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Издательство СПХФА, 2001. – 663 с.

67. Добрынина В.И. Биологическая химия / В.И. Добрынина. - М.: Медицина, 1976. - 474-475 с.

68. Долгова, А.А. Морфолого-анатомическое исследование лекарственного растительного сырья: практикум по фармакогнозии / А.А. Долгова, Е.Я. Ладыгина. – М.: Медицина, 1977. – С. 227-228.

69. Долгова, А.А. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии / А.А. Долгова, Е.Я. Ладыгина. - М.: Медицина, 1977. - 137-140 с.

70. Дрозд, Г.А. Ограничения и противопоказания для лекарственного растительного сырья: Информационно-аналитическое пособие по побочным эффектам лекарственных растений / Г.А. Дрозд. – Курск: КГМУ, 2006. - 59 с.

71. Дрозд, Г.А. Безопасность использования лекарственного растительного сырья / Г.А. Дрозд, Н.Г. Лищук // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. – Пятигорск, 2007. - С. 467-468.

72. Жидкостная колоночная хроматография / Под ред. М.С. Цвет. – М.: Мир, 1978. – 428 с.

73. Жизнь растений / Под ред. Тахтаджана А.Л. // Т.5, Ч. 2. М.: «Просвещение», 1981. - С. 81 - 86.

74. Завражнов, В.И. Лекарственные растения Центрального Черноземья / В.И. Завражнов, В.А. Китаева, К.Ф. Хмелев. – Воронеж: Изд-во ВГЦ, 1977. – 448 с, 174 с, 316 с.

75. Зайцева, Н.В. Изучение диагностических признаков корней щавеля конского / Н.В. Зайцева, Н.А. Язрикова, К.Н. Серикова // Молодежь и наука: модернизация и инновационное развитие страны: тезисы II Международной научно-практической конференции. – Пенза, 2012. – С. 251-255.

76. Зайцева, Н.В. Изучение комплекса биологически активных соединений в корнях *Rumex confertus* / Н.В. Зайцева // Молодые ученые – медицине: материалы Всероссийской конференции с международным участием. – Самара, 2013. – С. 277-280.

77. Зайцева, Н.В. Исследование химического состава *Rumex confertus* / Н.В. Зайцева // Бюллетень Северного государственного медицинского университета (выпуск XXIX). – Архангельск, 2012. - № 2. – С. 68-69.

78. Зайцева, Н.В. Качественное и количественное определение антраценпроизводных в корнях щавеля конского / Н.В. Зайцева // Биоматериалы и нанобиоматериалы: Актуальные проблемы и вопросы безопасности: тезисы Всероссийской молодежной научной школы. – Самара, 2012. – С. 86-87.

79. Зайцева, Н.В. Научное обоснование целесообразности применения в медицине различных органов щавеля конского (Rumex confertus Willd.) / Н.В. Зайцева, В.А. Куркин, Е.В. Авдеева // Традиционная медицина. – 2012. – № 5. – С. 244-247.

80. Зайцева, Н.В. Новые подходы к качественному и количественному анализу антраценпроизводных в корнях щавеля конского / Н.В. Зайцева // Современные проблему медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств: материалы IV Всероссийской научно-практического семинара молодых ученых с международным участием. – Волгоград: Издательство ВолГМУ, 2012. – С. 31.

81. Зайцева, Н.В. Перспективы комплексного использования щавеля конского / Н.В. Зайцева, В.А. Куркин, Е.В. Авдеева // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Том 14. - № 1 (9). - С. 2222-2225.

82. Зайцева, Н.В. Современные подходы к стандартизации корней щавеля конского / Н.В. Зайцева // Молодые ученые – медицине: материалы Всероссийской конференции с международным участием. – Самара, 2012. – С. 211-213.

83. Зайцева, Н.В. Сравнительное изучение надземных и подземных органов щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.) / Н.В. Зайцева, В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, Н.А. Язрикова, К.Н. Серикова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов 68-й научной конференции по фармации и фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ. – Волгоград, 2013. – С. 50 – 51.

84. Зайцева, Н.В. Сравнительное исследование химического состава различных органов щавеля конского / Н.В. Зайцева // Аспирантский вестник Поволжья. – 2012. - № 5-6. – С. 279-281.

85. Зайцева, Н.В. Фармакогностическое исследование и стандартизация корней щавеля конского (Rumex confertus WILLD.): дис. канд. фарм. наук: 14.04.02 / Зайцева Надежда Вячеславовна. – М., 2014. – 132 с.

86. Зайцева, Н.В. Фитохимическое исследование различных сырьевых органов щавеля конского / Н.В. Зайцева // Санкт-Петербургские научные чтения – 2011:

тезисы IV Международного молодежного медицинского конгресса. – Санкт-Петергбург, 2011. – С.364.

87. Зайцев, В.М., Прикладная медицинская статистика / В.М. Зайцев, В.Г. Лифляндский, В.И. Маринкин // Санкт-Петербург. Фолиант. - 2003. - 432 с.

86.

88. Замятина, Н. Лекарственные растения / Н. Замятина - М.: ABF, 1998. - 493 с.

89. Запесочная, Г.Г. Методические основы химической стандартизации растительного сырья и фитопрепаратов / Г.Г. Запесочная // Современное состояние и перспективы научных исследований в области фармации: тез. докл. науч.-практ. конф., посвящ. 25-летию фарм. фак-та СамГМУ. – Самара, 1996. – С. 127.

90. Землинский, С.Е. Лекарственные растения СССР / С.Е. Землинский. – Москва: Государственное издательство медицинской литературы, 1958. - С. 126-127; С. 164-166.

91. Зенкевич, И.Г. Методы количественного хроматографического анализа лекарственных веществ. Пособие для фармацевтических работников / И.Г. Зенкевич, В.М. Косман. – С.-Пб.: СПХФА, 1999. – 81 с.

92. Зенкевич, И.Г. Обзор физико-химических методов стандартизации настоек, экстрактов и эликсиров в ведущих странах Европы и Америки / И.Г. Зенкевич, В.Л. Багирова, Т.А. Сокольская, Е.Б. Нечаева // Фармация. 2002. -№ 1. - С. 43 -46.

93. Зенкевич, И.Г. Обзор физико-химических методов стандартизации настоек, экстрактов и эликсиров в ведущих странах Европы и Америки / И.Г. Зенкевич, В.Л. Багирова, Т.А. Сокольская, Е.Б. Нечаева // Фармация. 2002.- № 2. С. 45 - 49.

94. Ивашин, Д.С. Лекарственные растения Украины / Д.С. Ивашин, З.Ф. Катина, И.З. Рыбачу к, В.С. Иванов, Л.Т. Бутенко. Киев: «Урожай», 1974. - 360 с.

95. Иллюстрированный определитель растений средней России. Том 2. Покрытосеменные (Двудольные: раздельнолепестные). Губанов И.А., Киселева К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. Товарищество научных изданий КМК, Институт технологических исследований. - М. - 2003. – С. 663.

96. Йорданов, Д. Фитотерапия / Д. Йорданов, П. Николов, А. Бойчинов. -София: «Медицина и физкультура», 1969. - 342 с.

97. Каукин, А. Целебная кора (текст) /А. Каукин// Будь здоров! – 2006. - № 8. - С. 42-47.

98. Кац, Н.Я. Атлас и определитель плодов и семян, встречающихся в четвертичных отложениях СССР / Н.Я. Кац, С.В. Кац, М.Г. Кипиани. – М., Наука, 1965.

99. Кемертелидзе, Э.П. Физико-химические методы анализа некоторых биологически активных веществ растительного происхождения / Э.П. Кемертелидзе, В.П. Георгиевский. – Тбилиси: Мецниереба, 1976. – 222 с.

100. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография. В 2-х томах. / Пер. с англ. Под ред. д.х.н., проф. В.Г. Березкина. – М.: Мир, 1981. – 1139 с.

101. Кирьянов, А.А. Применение хроматоспектрофотометрического метода для количественного определения ряда флавоноидов в растительном сырье / А.А. Кирьянов, Л.Т. Бондаренко, М.Е. Перельсон // Тезисы Четвертого Всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям. – Ташкент, 1982. - С. 35-36.

102. Киселева, Т.Л. Краткая энциклопедия современной фитотерапии с основами гомеопатии. Справочник практического врача. / Т.Л. Киселева, Ю.А. Смирнова, И.Л. Блинков, М.А. Дронова, Е.В. Цветаева. – М.: Изд-во профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2010. – 552 с.

103. Киселева, Т.Л. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества / Т.Л. Киселева, Ю.А. Смирнова. - М., 2009. - 295 с.

104. Киселева, Т.Л. Отечественные фармакопейные растения и сырье: учебное пособие / Т.Л. Киселева, Ю.А. Смирнова, А.А. Карпеев. - М., 2009. - 108 с.

105. Клиническая фармакология / В.В. Закусов. – М.: Медицина, 1998. - 608 с.

106. Ковалев, В.Н. Практикум по фармакогнозии: учебное пособие / В.Н. Ковалев, Н.В. Попов, В.С. Кисличенко; под. общ. ред. В.Н. Ковалева. - Харьков: Изв-во НФаУ: Золотые страницы: МТК - Книга, 2004. - 512 с.

107. Количественный анализ хроматографическими методами/ Под ред. Э. Кэц: Пер. с англ. М.: Мир, 1990. - С.37 - 39.

108. Корпачев, В.В. Целебная фауна / В.В. Корпачев. М.: «Наука», 1989. - 189 с.

109. Корулькин, Д.Ю. Природные флавоноиды / Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музычкина, Г.А. Толстиков. - Новосибирск: Академическое издательство «Гео», 2007. – 232 с.

110. Кос, О. И. Кшьюсний вмют щавелево! кислоти в рослинах роду щавель / О.И. Кос, Л.В. Бензель // Фармацевтический журнал. - 1999. - № 2. - С. 38-41

111. Котельников, Г.П. Доказательная медицина. Научно обоснованная медицинская практика: монография. Изд. 2-е, перераб. и доп. / Г.П. Котельников, А.С. Шпигель. - М.: Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2012. - 242 с.

112. Куркина, А.В. Современные принципы разработки новых лекарственных препаратов в фармации / А.В. Куркина // Материалы I Международного съезда фитотерапевтов. – Москва, 2006. – С. 152-154.

113. Куркина, А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: Монография / А.В. Куркина. - Самара: ООО «Офорт», ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 290 с.

114. Куркин, В.А. Актуальные аспекты стандартизации видов лекарственного растительного сырья, включенных в государственную фармакопею российской федерации XIII издания / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, А.В. Куркина, О.Е. Правдивцева, В.Б. Браславский, В.М. Рыжов, М.В. Егоров, В.В. Стеняева, Н.Р. Варина, А.В. Егорова, Л.В. Тарасенко, Т.К. Рязанова, А.И. Хусаинова, П.В. Афанасьева, Д. В. Росихин, А.А. Шмыгарева // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2016. – т. 18, №2(3). - С.730-736.

115. Куркин, В.А. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, А.В. Куркина, О.Е. Правдивцева, В.Б. Браславский, В.М. Рыжов, М.В. Егоров, В.В. Стеняева, Н.Р. Варина, А.В. Егорова, Л.В. Тарасенко, Т.К. Рязанова, А.И. Хусаинова, П.В. Афанасьева, Д. В. Росихин, А.А. Шмыгарева // I

Межвузовская студенческая научно-практическая конференция «Современные проблемы фармакогнозии». – Самара, 2016. - С. 163-180.

116. Куркин, В.А. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, и слабительных препаратов на их основе / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, И.К. Петрухина, А.А. Шмыгарева, А.И. Агапов, В.Н. Ежков // Фундаментальные исследования. – 2015. - №2 С. 1424-1431.

117. Куркин, В.А. Анатомо-морфологическое исследование корней щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.) / В.А. Куркин, Н.В. Зайцева, Е.В Авдеева, В.М. Рыжов, Л.В. Тарасенко // Медицинский альманах. – 2013. – № 1. – С. 196-198.

118. Куркин, В.А. Анатомо-морфологическое исследование плодов сенны / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.А.Саньков // Традиционная медицина. – 2015. - №3 (42). - С. 37-40.

119. Куркин, В.А. Антрагликозиды коры крушины ломкой (*Frangula alnus* Mill.) / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, Е.Д. Даева, В.И. Каденцев // Химия растительного сырья. – 2012. - № 1. - С. 83-86.

120. Куркин, В.А. Антрахиноны и производные нафталина *Rumex confertus* / В.А. Куркин, Н.В. Зайцева, Е.В. Авдеева, Е.Д. Даева, В.И. Каденцев // Химия природных соединений. - 2013. - № 1. - С. 118-119.

121. Куркин, В.А. Зверобой: итоги и перспективы создания лекарственных средств: монография / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева. - Самара: ООО «Офорт» ГОУ ВПО «СамГМУ», 2008. - 128 с.

122. Куркин, В.А. Иллюстрированный словарь терминов и понятий в фармакогнозии: Учебное пособие для студентов медицинских и фармацевтических вузов, врачей и фармацевтических работников // В.А. Куркин, В.Ф. Новодранова, Т.В. Куркина. – Москва; Самара: ГП «перспектива», СамГМУ, 2002. - 188 с.

123. Куркин, В.А. Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Крушины сироп» / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, Т.К. Рязанова, А.А. Саньков // Химико-фармацевтический журнал. – 2014. – Т. 48, № 6. – С.99-102.

124. Куркин, В.А. Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Сенны сироп» / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, Т.К. Рязанова, А.А. Саньков // Химико-фармацевтический журнал. – 2016. - Том 50, № 10. - С.47-50.

125. Куркин, В.А. Морфолого-анатомическое исследование корневищ с корнями марены красильной / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.А.Саньков // Традиционная медицина. – 2016. - №2 (45). - С. 47-49.

126. Куркин, В.А. Морфолого-анатомическое исследование листьев Senna alexandrina Mill. / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.А.Саньков // Современные проблемы науки и образования. – 2015. - № 4.

127. Куркин, В.А. Морфолого-анатомическое исследование листьев и побегов алоэ древовидного / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.Н.Саньков, С.Н. Витвинина // Известия Самарского научного центра РАН. – 2015. – т. 17, №5(3). - С.947-950.

128. Куркин, В.А. Морфолого-анатомическое исследование ревеня тангутского/ В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.А.Саньков // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Секция Медицина. Фармация. – 2015. - №35. - С. 106-110.

129. Куркин, В.А. Неореин – новый антрахинон листьев *Cassia acutifolia* / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева // XV Международная научно-практическая конференция. – Москва, 2015. - №6. - С. 137-139.

130. Куркин, В.А. Новые подходы к стандартизации листьев сенны / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева // Химия растительного сырья. - 2016. - №1. - С. 71-77.

131. Куркин, В.А. Определение антраценпроизводных в коре крушины / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева // Фармация. – 2010. - № 8. - С. 9-12.

132. Куркин, В.А. Определение антраценпроизводных в корнях щавеля конского / В.А. Куркин, Н.В. Зайцева, Е.В. Авдеева // Фармация. - 2013. - № 1. - С. 8-10.

133. Куркин, В.А. Определение суммы антраценпроизводных в препарате «Крушины экстракт таблетки» / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, Т.К. Рязанова, А.А.Саньков // Фармация. – 2015. – № 1. – С. 10-12.

134. Куркин, В.А. Основы фитотерапии: Учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009. - 963 с.

135. Куркин, В.А. Перспективы создания и внедрения импортозамещающих лекарственных растительных средств / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, В.Б. Браславский, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина и др. // XVIII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»: тезисы докладов. – Москва, 2011. – С. 507.

136. Куркин, В.А. Перспективы создания импортозамещающих лекарственных растительных препаратов / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, А.В. Дубищев, О.Л. Кулагин, В.Б. Браславский, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина и др. // Традиционная медицина. – 2011. – № 5 (28). - С.230-232.

137. Куркин, В.А. Производственная практика по стандартизации лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов: Учебное пособие. - 2-е изд., перераб. и доп. / В.А. Куркин, В.Б. Браславский, Е. В. Авдеева, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина, М.В. Егоров. – Самара: ООО «Офорт», ГОУВПО «СамГМУ», 2009. – 126 с.

138. Куркин, В.А. Проблемы рационального использования лекарственных и пищевых растений в научной и народной медицине / В.А. Куркин // Материалы международной научно-практической конференции «Самара в контексте мировой культуры». – Самара, 2001. - С. 15-25.

139. Куркин, В.А. Разработка новых подходов к стандартизации плодов жостера слабительного/ В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева // Фармация. – 2012. – Т. 60, № 6. – С. 10-14.

140. Куркин, В.А. Разработка новых подходов к стандартизации плодов сенны александрийской (Cassia acutifolia Del.) / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.Н. Саньков // «Международная научно-практической конференция «Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине». – Москва, 2016. - С. 385-388.

141. Куркин, В.А. Разработка новых подходов к стандартизации проктофитола / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.А.Саньков // Медицин¬ский альманах. – 2014. – № 2 (32). – С. 138-141.

142. Куркин, В.А. Разработка новых подходов к стандартизации сбора «Для очищения организма» / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.А.Саньков // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2015. - №2(52). - С. 171-174.

143. Куркин, В.А. Разработка новых подходов к стандартизации сбора «Тростинка» / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.Н.Саньков // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Секция Медицина. Фармация. – 2016. - №5 (226). - С. 109-114.

144. Куркин, В.А. Разработка новых подходов к стандартизации сбора «LUX» / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.А.Саньков // Фундаментальные исследования. – 2014. - №6. - С. 1237-1241.

145. Куркин, В.А. Разработка технологии получения и исследования слабительного действия густого экстракта из плодов сенны александрийской / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.Н.Саньков // Медицинский альманах. – 2016. - №5 (45). - С.217-220.

146. Куркин, В.А. Современные аспекты химической классификации биологически активных соединений лекарственных растений / В.А. Куркин // Фармация. – 2001. – Т. 50, № 2. - С. 8-16.

147. Куркин, В.А. Современная фармакогнозия: приоритеты и новые возможности / В.А. Куркин // Материалы II Всероссийского съезда фармацевтических работников. – Сочи, 2005. С.96-98.

148. Куркин, В.А. Сравнительный анализ номенклатуры группы растительных слабительных лекарственных препаратов, представленных на Российском рынке / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, М.Р. Дударенкова, А.А.Саньков // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2015. - №1(51) С. 135-137

149. Куркин, В.А. Сравнительное морфолого-анатомическое исследование коры крушины ломкой и жостера слабительного / В.А. Куркин, А.А Шмыгарева // Медицинский альманах. – 2010. - № 3. - С. 206-209.

150. Куркин, В.А. Сравнительное слабительное действие препаратов, содержащих антрагликозиды / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.А.Саньков // Медицинский альманах. – 2015. – № 3(38). – С. 220-222.

151. Куркин, В.А. Сравнительное слабительное действие различных извлечений из коры *Frangula alnus* Mill. и плодов *Rhamnus cathartica* L. / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.А.Саньков // Растительные ресурсы. – 2015. - Том 51, № 2 – С.207-212.

152. Куркин, В.А Сравнительное фитохимическое исследование коры крушины ломкой и плодов жостера слабительного / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева // Традиционная медицина. – 2012. – № 5. – С. 56-58.

153. Куркин, В.А. Стандартизация желудочного сбора №3 / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.А.Саньков // Фармация. – 2014. – № 1. – С. 11-13.

154. Куркин, В.А. Фармакогнозия: Учебник. – 2-е изд., перераб.и доп. / В.А. Куркин. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ», 2007. - С. 794-799.

155. Куркин, В.А. Физико-химические методы исследования природных биологически активных соединений. Ч. 1. Хроматографические методы: Учебное пособие / В.А. Куркин, В.Б. Браславский, Е.В. Авдеева, М.Ф. Сенцов, Л.Д. Климова, И.Ф. Шаталаев. – Самара: СамГМУ, 1997. – 38 с.

156. Куркин, В.А. Фитохимическое исследование коры крушины ломкой / В.А. Куркин, А.А Шмыгарева // Медицинский альманах. – 2012. - № 1. - С. 218-220.

157. Курочкин, Е. И. Лекарственные растения. - 4-е изд., испр. и доп. / Е. И. Курочкин. - Самара: Парус, 1998. - 510 с.

158. Курочкин, Е.И. Лекарственные растения Среднего Поволжья / Е.И. Курочкин. – Куйбышев: Кн. изд-во, 1984. - С. 94-97.

159. Кучеров, Е.В. Дикорастущие пищевые растения и их использование / Е.В. Кучеров. - Уфа: РИО Госкомиздата БССР, 1990. - 160 с.

160. Кожечкин С.Н. Несовместимость лекарственных средств / С.Н. Кожечкин // Медико-фармацевтический вестник. - 1966. - № 4-5. - С. 10¬17.

161. Куриленко, В.А. О вреде самолечения травами / В.А. Куриленко // Вестник народной медицины России. - 1997. - № 4. - С. 35-36.

162. Кущ, Н.Л. Запоры у детей / Н.Л. Кущ. – Киев: Здоровья, 1976. -176 с.

147. Кьосев, П.А. Полный справочник лекарственных растений / П.А. Кьосев. - М.: «Эксмо-Пресс», 2000. - 288 с.

163. Лавренов, В.К. Современная энциклопедия лекарственных растений / В.К. Лавренов, Г.В. Лавренова. - С.-Петербург: «Нева», 2006. - 272 с.

164. Лавренов, В.К. Важнейшие лекарственные растения / В.К. Лавренов, Г.В. Лавренова. - М.: «Издательство АСТ», 2004. - 510 с.

165. Лекарственные препараты, разрешенные к применению в СССР / М.А. Клюев, Э.А. Бабаян и др. – М.: Медицина, 1979. – 352 с.

166. Лекарственные растения в научной и народной медицине / Б.Г. Волынский, К.И. Бендер, С.Л. Фрейдман, С.И. Богословская, К.В. Воронина и др. – Саратов: Изд-во Саратовского университета, 1967. - С. 113-114; С. 115-116.

167. Лекарственные средства из растений (опыт ВИЛАР): Научное издание / С.А. Вичканова, В.К. Колхир, Т.А. Сокольская, И.В. Воскобойникова, В.А Быкова. – М.: АДРИС, 2009. – 432 с.

168. Лекарственные растения Государственной фармакопеи. Фармакогнозия / И.А. Самылина, В.А. Северцева. – М.: АНМИ, 2003. – 534 с.

169. Лесиовская, Е.Е. Фармакотерапия с основами фитотерапии: учебное пособие. 2-е изд. / Е.Е. Лесиовская, Л. В. Пастушенков. - М., 2003.

170. Литвиненко, В.И. Биогенез и классификация флавоноидов / В.И. Литвиненко// Тезисы докладов Пятого всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям. – Таллин, 1987. С.53-55.

171. Лотова, Л.И. Ботаника: Морфология и анатомия высших растений: учебник. / Л.И. Лотова. – 4-е, изд. доп. – М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2010. – 512 с.

172. Лужников, Е.А. Клиническая токсикология / Е.А. Лужникова. - М.: Медицина, 2000. - 416 с.

173. Мансуров, Х.Х. Хронические запоры в «Каноне врачебной науки» Абуали Ибни Сино и современное состояние проблемы / Х.Х. Мансуров // Здравоохранение Таджикистана. - 1979. - № 2. - С. 5-9.

174. Маркова, И.В. Слабительные средства / И.В. Маркова, В.Н. Саляев, Б.С Утешев. – М., Медицина, 1979. – 584 с.

175. Максютина, Н.П. Растительные лекарственные средства / Н.П. Максютина, Н.Ф. Комиссаренко, А.П. Прокопенко. - Киев: Здоровья, 1985. – 280 с.

176. Махлаюк, В.П. Лекарственные растения в народной медицине / В.П. Махлаюк. - М.: Нива России. - 1992. -477 с.

177. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 15-е изд., перераб. и доп. – М.: РИА «Новая волна»: Издатель Умеренков, 2008. – 1206 с.

178. Минаева, В.Г. Лекарственные растения Сибири / В.Г. Минаева. 5-е изд., перераб. и доп. - Новосибирск: Наука, 1991. - С. 186 - 187.

179. Минеджян, Г.З. Сборник по народной медицине и нетрадиционным способам лечения / Г.З. Минеджян. М.: Серда-Пресс, 1999. - 509 с.

180. Минина, С.А. Химия и технология фитопрепаратов: Учебное пособие. – 2-е изд., перераб. и доп. / С.А. Минина, И.Е. Каухова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 560 с.

181. Минчик, О.Ю. Методы получения сухих экстрактов из лкарственного растительного сырья / О.Ю. Минчик // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. – Пятигорск, 2004. – Вып. 59. - С.101-102.

182. Муравьев, И.А. Технология лекарств / И.А. Муравьев. Изд. 3-е, перераб. и доп. - Т. I. - М.: Медицина, 1980. - 391 с.

183. Муравьева, Д.А. Фармакогнозия: Учебник / Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. - М.: Медицина, 2002. – 656 с.

184. Никитин, А.А., Панков И.А. Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений / А.А. Никитин, И.А. Панков. - Л.: Наука, 1982. - С. 370-372.

185. Новицкий, В.В. Разработка фармакопейной статьи «Щавеля конского корни» / В.В. Новичкий, Л. М. Огородова. - Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2011. - 430 с.

186. Носов, А.М. Лекарственные растения /А.М. Носов. - М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. - 348 с.

187. Нуралиев, В. Лекарственные растения / В. Нуралиев. - Душанбе: «Маориф», 1988. - 287 с.

188. Паламарчук, И.А. Изучение растительной клетки / И.А. Паламарчук, Т.Д. Веселова. - М.: Просвещение, 1969. - 143 с.

189. Пастушенков, Л.В. Лекарственные растения / Л.В. Пастушенков, Л.Л. Пастушенков, В.Л. Пастушенков - ЛЕНИЗДАТ.: Социально- коммерческая фирма «Человек», 1990. - С. 57.

190. Пастушенков, Л.В. Фармакотерапия с основами фитотерапии / Л.В. Пастушенков, Е.Е. Лесиовская - Ч. I, II. - С.-Пб.: СПХФИ, 1995. - С.

191. Патент РФ на изобретение № 2582982/ А61К 36/482; 11/02; А61Р 1/10 / Сироп из листьев сенны остролистной. - Куркин В.А., Рязанова Т.К., Шмыгарева А.А.- Бюл. № 12. – 27.04.2016 г.

192. Патент РФ на изобретение № 2582276 / А61К 36/72; 11/02; А61Р 1/10 / Сироп из плодов жостера слабительного. - Куркин В.А., Рязанова Т.К., Шмыгарева А.А.- Бюл. № 11. – 20.04.2016 г.

193. Патент РФ на изобретение № 2557929 / А61К 36/72; 129/00; А61Р 1/10 / Сироп крушины ломкой. - Куркин В.А., Рязанова Т.К., Шмыгарева А.А.- Бюл. № 21. – 27.07.2015 г.

194. Патент РФ на изобретение № 2522974 / Способ количественного определения суммы антраценпроизводных веществ в корнях щавеля конского. - Куркин В.А., Зайцева Н.В., Авдеева Е.В. - Бюл. № 20. – 20.07.2014 г.

195. Попов, А.П. Лесные целебные травы / А.П. Попов. - Москва: Изд-во «Лесная промышленность», 1973. - С. 31; С. 33-34.

196. Племенков, В.В. Введение в химию природных соединений / В.В. Племенков. – Казань, 2001. – 376 с.

197. Правила сбора и сушки лекарственных растений (сборник инструкций). М.: Медицина, 1985. - 104-106 с.

198. Правдивцева, О.Е. Актуальные вопросы стандартизации антраценсодержащих видов лекарственного растительного сырья, включенных в государственную фармакопею Российской Федерации / О.Е. Правдивцева, В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, А.В. Куркина, А.А. Шмыгарева, А.И. Агапов, О.Л. Кулагин // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2016. - № 12-2. - С. 272-276.

199. Правдивцева, О.Е. Исследование динамики накопления флавоноидов и антраценпроизводных в зверобоя траве / О.Е. Правдивцева, В.А. Куркин, Л.Н. Зимина // Материалы конференции «Фармация и общественное здоровье». – Екатеринбург, 2008. - С. 262-264.

200. Пустырский, И.Н. Универсальная энциклопедия лекарственных растений / И.Н. Пустырский, В.Н. Прохоров. – М.: Махаон, 2000. - С. 138-139; С. 169-172.

201. Рабинович, М.И. Лекарственные растения ветеринарии / М.И. Рабинович. – М.: Россельхозиздат, 1981. - С. 59-60.

202. Растения для нас: Справочное издание / Г.П. Яковлев, К.Ф. Блинова и др. – С.-Пб.: Учебная книга, 1996. – 654 с.

203. Растительные лекарственные средства / Н.П. Максютина, Н.Ф. Комиссаренко, А.П. Прокопенко и др.; Под ред. Н.П. Максютиной. - Киев: Здоровье, 1985. - С. 96-102.

204. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 1. Семейства Magnoliaceae – Juglandaceae, Ulmaceae, Moraceae, Cannabiaceae, Urticaceae / А.Л. Буданцев и др. - М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 421 с.

205. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. Семейства *Fabaceae* – *Apiaceae* / А.Л. Буданцев и др. - М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. – 601 с.

206. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейство *Rutaceae* - *Elaeagnaceae*. - Л.: Наука, 1988. - С. 182-186.

207. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства *Hydrangeaceae* - *Haloragaceae*. - Л.: Наука, 1987. – 326 с.

208. Регуляторный статус и проблема безопасности средств растительного происхождения / О.В. Решетько [и др.] // Ремедиум. – 2010. - № 5. – С. 15-18.

209. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. - М.: ОАО Издательство «Медицина», 2005. - 832 с.

210. Рыбалко, М.В. Сравнительный анализ номенклатуры группы слабительных растительных лекарственных средств, представленных на фармацевтическом рынке Оренбургской области./ М.В. Рыбалко, А.А. Шмыгарева // IX Международная научно-практическая конференция «Научные исследования и разработки в эпоху глобализации». – Волгоград, 2017. - С. 217-223.

211. Самылина, И.А. Пути использования лекарственного растительного сырья и его стандартизация / И.А. Самылина, И.А Баландина // Фармация. – 2004. – Т. 52, № 2. – С. 39-41.

212. Самылина, И.А. Проблемы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных средств / И.А. Самылина // Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты: Материалы I Международного научного конгресса. – М.: Институт традиционных методов лечения МЗ РФ и др. – 1994. – С. 254.

213. Самылина, И.А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие: в 2-х томах, / И.А. Самылина, О.Г. Аносова. - М.: Издательская группа «ГЕОТАР- Медиа», 2007. - Том 1. - 192 с.

214. Самылина, И.А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие: в 2-х томах, / И.А. Самылина, О.Г. Аносова. - М.: Издательская группа «ГЕОТАР- Медиа», 2007. - Том 2. - 384 с.

215. Самылина, И.А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие: в 2-х томах, / И.А. Самылина, О.Г. Аносова. - М.: Издательская группа «ГЕОТАР- Медиа», 2007. - Том 3. - 488 с.

216. Саньков, А.Н. Лекарственные травы Оренбуржья / Саньков А.Н. – Оренбург: Изд-во «Южный Урал», 2001. – С. 127; С. 129.

217. Сафонов, Н. Н. Полный атлас лекарственных растений : полезные растения, их свойства и применение / Н. Н. Сафонов - М.: ЭКСМО, 2005. – 310 с.

218. Семенюта, К.Н. Сравнительный анализ номенклатуры группы растительных лекарственных средств, на основе ревеня тангутского, представленных на российском рынке./ К.Н. Семенюта, А.А. Шмыгарева // VIII Международная научно-практическая конференция «Наука, образование и инновации» – Екатеринбург, 2016. - С. 226-229.

219. Современные аспекты фармакогностического и биохимического изучения суккулентного сырья алоэ древовидного и каллизии душистой / И.Н. Зилфикаров, Д.Н. Оленников, Т.А. Ибрагимов, В.А. Челомбитько, В.В. Вандышев. – МО, Щелково: Издатель Мархотин П.Ю., 2013. – 192с.

220. Современная фитотерапия / Под ред. В. Петкова / Перевод с болгарского Т.В. Матвеевой. София: Медицина и физкультура, 1988. - 504 с.

221. Соколов, С.Я. Справочник по лекарственным растениям / С.Я. Соколов, И.П. Замотаев. – М.: Медицина, 1990. – 206 с.

222. Соколов, С.Я. Справочник по лекарственным растениям (фитотерапия) / С.Я. Соколов, И.П. Замотаев. - М.: Медицина, 1985. - 463 с.

223. Соколов, С.Я. Фармакотерапия и фитофармакология. Руководство для врачей. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2000. – 976 с.

224. Справочник по гастроэнтерологии / Под ред. В.Х. Василенко, - М.: Медицина, 1976. – 384 с.

225. Тенцова, А.И. Слабительные средства растительного происхождения и их применение / А.И. Тенцова. - М. - 1982. - 56 с.

226. Тихонов, В.Н. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты Учебное пособие. Часть II. / В.Н. Тихонов, Г.И. Калинкина, Е.И. Сальникова. - Томск, 2004. - С. 18-20.

227. Тлехас, Г.И. Лекарственные растения Оренбургской области / Г.И. Тлехас. - Челябинск: Южно-Уральское кн. Изд-во, 1974. - С. 131-135.

228. Турищев, С. Об осложнениях фитотерапии / С. Турищев // Врач. - 1997. - № 11. - С. 11.

229. Турова, А.Д. Лекарственные растения СССР и их применение / А.Д. Турова, Э.Н. Сапожникова. – Медицина, 1984. - С. 184-187.

230. Фёдоров, А.А. Атлас по описательной морфологии высших растений. Стебель и корень / А.А. Фёдоров, М.Э. Кирпичников, З.Т. Артюшенко М.-Л.: Изд. АН СССР. - 1962. - С. 22 - 27.

231. Федоров, А.А. Жизнь растений в шести томах - Т.5(1). - Москва: «Просвещение», 1980. - 382 с.

232. Флора СССР VIII том, В.Л. Комаров. Издательство Академии наук СССР, Москва-Ленинград, 1939. - С. 596 – 602.

233. Фролькис, А.В. Запор и его лечение / А.В. Фролькис – Клин. Мед. - 1979. - № 3. – С.112-117.

234. Хабриев, Р.У. Руководство по рациональному использованию лекарственный средств (формуляр) / Р.У. Хабриев, А.Г. Чучалин, Ю.Б. Белоусов, Л.Е., Л.Е. Зиганшина. – М.: Издательская группа ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 768 с.

235. Химический анализ лекарственных растений: Учебное пособие для фармацевтических вузов / Е.Я. Ладыгина, Л.Н. Сафронич, В.Э. Отряшенкова. - М.: Высш. школа, 1983. - С. 67-81.

236. Хржановский, В.Г. Практикум по курсу общей ботаники: Учеб. пособие / В.Г. Хржановский, С.Ф. Пономаренко. - М.: Высш. школа, 1979. - 422 с.

237. Хроматография в тонких слоях / Под ред. Э. Шталя. - М.: Мир, 1965. - 508 с.

238. Хроматография: Практическое применение метода: в 2-х ч.: пер. с англ./ Ш. Чарме и др., под ред. Э. Хефтмана. – М.: Мир, 1986. – 422 с.

239. Шаршунова, М. Тонкослойная хроматография в фармации и

клинической биохимии / М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец. – М.: Мир, 1980. – Т. 1, 2.

240. Шелюто, В.Л. Фармакогнозия: Учеб. пособие / В.Л. Шелюто, Г.Н. Бузук, М.М. Коноплева, Ю.О. Ловчиновский; Под ред. В.Л. Шелюто Витебск: ВГМУ, 2003. - 490 с.

241. Шмыгарева, А.А. Актуальные аспекты создания импортозамещающих слабительных лекарственных препаратов / А.А. Шмыгарева, К.Н. Семенюта, М.В. Рыбалко, С.Н. Глущенко // IX Международная научно-практическая конференция «Проблемы и перспективы развития науки в россии и мире». – Екатеринбург, 2017. - С. 135-137.

242. Шмыгарева, А.А. Морфолого-анатомическое исследование порошка крушины ломкой (Frangula alnus Mill.) / А.А. Шмыгарева, К.Н. Семенюта // I Межвузовская студенческая научно-практическая конференция «Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы». – Самара, 2016. - С.

243. Шмыгарева, А.А. Определение суммы антраценпроизводных в препарате «Сенаде» / А.А. Шмыгарева // VIII Международная научно-практическая конференция «Результаты научных исследований». – Тюмень, 2016. - С. 147-148.

244. Шмыгарева, А.А. Определение суммы антраценпроизводных в препарате «Сенадексин» / А.А. Шмыгарева // VIII Международная научно-практическая конференция «Современные концепции развития науки». – Курган, 2016. - С. 172-173.

245. Шмыгарева, А.А. Разработка новых подходов к стандартизации сбора «Слабительный» / А.А. Шмыгарева // VII Архангельская международная медицинская научная конференция молодых ученых и студентов. – Архангельск, 2014. - С. 179.

246. Шмыгарева, А.А. Разработка новых подходов к стандартизации сбора «Комфорт» / А.А. Шмыгарева // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2014. - №6(50). - С. 152-155.

247. Шмыгарева, А.А. Разработка новых подходов к стандартизации сбора «Аэлит» / А.А. Шмыгарева // IV Международная научно-практическая конференция. – Белгород, 2015. - С. 63-64.

248. Шмыгарева, А.А. Разработка новых подходов к стандартизации сбора «Эффект» / А.А. Шмыгарева // VII Международная научно-практическая конференция. – Пермь, 2015. - С. 272-274.

249. Шмыгарева, А.А. Разработка новых подходов к стандартизации сбора «Для похудания» / А.А. Шмыгарева // VII Международная научно-практическая конференция «Управление инновациями в современной науке». – Самара, 2015. - С. 139.

250. Шмыгарева, А.А. Разработка новых подходов к стандартизации сбора «Фаворит» / А.А. Шмыгарева // Международная научно-практическая конференция. – Белгород, 2015. - С.49-50.

251. Шмыгарева, А.А. Разработка новых подходов к стандартизации корней ревеня тангутского (Rheum palmatum L.) / А.А. Шмыгарева // I Межвузовская студенческая научно-практическая конференция «Современные проблемы фармакогнозии». – Самара, 2016. - С. 157-162.

252. Шмыгарева, А.А. Сравнительное слабительное действие препаратов на основе коры крушины, плодов жостера и листьев сенны / А.А. Шмыгарева, В.А. Куркин // Сеченовский вестник. –2015. - №1(19). - С.138.

253. Шмыгарева, А.А. Сравнительное морфолого-анатомическое исследование алоэ древовидного и алоэ пестрого/ А.А. Шмыгарева, А.Н.Саньков, В.А. Куркин, С.Н. Витвинина // Медицинский альманах. – 2016. - №2 (42). - С.147-149.

254. Шмыгарева, А.А. Фитохимическое исследование сырья фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные / А.А. Шмыгарева, В.А. Куркин // IV Научно-практическая конференция «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» – Москва, 2016. - С. 90-91.

255. Шмыгарева, А.А. Сравнительное фармакогностическое исследование крушины ломкой и крушины слабительной: дис. канд. фарм. наук: 14.04.02 / Шмыгарева Анна Анатольевна. – М., 2012. – 190 с.

256. Шретер, А.И. Лекарственная флора советского Дальнего Востока / А.И. Шретер. М.: Медицина, 1975. - С. 66 - 68.

257. Энциклопедия лекарств. Регистр лекарственных средств России / гл. ред. Г.Л. Вышковский. - М.: Изд-во РЛС-Медиа, 2010. - Вып. 18. - 1296 с.

258. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения: Учебное пособие / Г.П. Яковлев и К.Ф. Блинова и др. - СПб.: Специальная литература, 1999. - 407 с.

259. Эсау К. Анатомия растений/К. Эсау. - М.: Мир. 1969. - С. 103 - 105.

260. Язрикова, Н.А. Фармакогностическое исследование корней щавеля конского / Н.А. Язрикова, Н.В. Зайцева, К.Н. Серикова // Молодежь и наука: модернизация и инновационное развитие страны: тезисы II Международной научно-практической конференции. – Пенза, 2012. – С. 378-382.

261. Яковлев, Г. П. Ботаника: Учебник для вузов / Г.П. Яковлев, В. А. Челомбитько // Под ред. чл. – корр. РАН, проф. Р.В. Камелина. – СПб.: Спецлит, Издательство СПХФА, 2001. – 680 с.

262. Adzet, T. Polyphenolic compounds with biological and pharmacological activity / T. Adzet // Herbs Spices Medicinal Plants. – 1986. - No. 1. - P.167-184.

263. Aktar, Md. W. Status of sennosides content in various Indian herbal formulations: Method standardization by HPTLC / Md. W. Aktar, R. Poi, A. Bhattacharyya // Bangladesh J. Pharmacol. - 2008. – No. 3. – P. 64-68.

264. Baars, A.J. Gas chromatographic determination of the laxative 1,8-dihidroxyantraquinone in urine and faeces / A.J. Baars, R.J. Vermeulen, D.D. Breimer // J. Chomatogr. – 1976. - Vol. 120, No. 1. - P. 217-220.

265. Bagur, M.G. The standard addition methodology for evaluation of results in chromatographic analysis / M.G. Bagur, D. Gazguer, M. Sanchervinas etc. // Analysis. - 1997. - Vol. 24, No. 9-10. - P. 374-380.

266. Bedevian, A.K. Illustrated polyglottic dictionary of plant names in Latin, Arabic, Armenian, English, French, German, Italian and Turkish languages / A.K. Bedevian. - Cairo, Argus & Papazian Press, 1936.

267. Beubler, E. PGE-mediated effect of diphenolic laxatives / E. Beubler, H. Guan // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. - 1978. - Vol. 302, Suppl. - P. 47.

268. Beubler, E. The effect of diphenolic laxatives mediated via release of prostaglandin E / E. Beubler, H. Guan // Experientia. - 1978. - Vol. 34, No. 3. - P. 386-387.

269. Bisset, N.G. Herbal drugs and phytopharmaceuticals / N.G. Bisset. - Boca Raton, FL, CRC Press, 1994. - P. 463-469.

270. Bonati, A. Analysis by HPLC of anthraquinone drugs and relevant extracts. Part 1. *Rhamnus frangula* L. / A. Bonati, G. Forni // Phytoterapia. - 1977. - Vol. 48, No. 4. - P. 159-165.

271. Breimer, D.D. Pharmacokinetics and metabolism of anthraquinone laxatives / D.D. Breimer, A.J. Baars. - Pharmacology, 1976. - Vol. 14, Suppl. 1. - P. 30-47.

272. British Pharmacopoeia 2009: British* Pharmacopoeia Commission* Secretariat, part of the Medicines and Healthcare products Regulatory Agency, 2009.

273. Bruneton, J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants / J. Bruneton. - Paris, Lavoisier, 1995.

274. Converse, Carmen K. 1984. Element stewardship abstract: *Rhamnus cathartica, Rhamnus frangula* (syn. *Frangula alnus*)-buckthorns, [Online]. In: Control methods-plants. In: Invasives on the web: The global invasive species team. Davis, CA: The Nature Conservancy (Producer). Available: http://tncinvasives.ucdavis.edu/esadocs/documnts/franaln.pdf [2008, November 21].

275. Dave, H. A review on anthraquinones isolated from *Cassia* species and their applications / H. Dave, L. Ledwani // Indian Journal of Natural Products and Resources. - 2012. Vol. 3, No. 3. - P. 291-319.

276. Dean, P.D.G. Chromalographyi. A Practical Approach - 1RL Press / P.D.G Dean, W.S. Johnson, F.A. Middle. - Oxford, England, 1985. – P. 215.

277. Demagos, G.P., New Anthraquinone8 and Anthraquinone Glycosides from Morinda lucida / G.P. Demagos, W. Baltus, G. Hofle // Z. Naturforsch. – 1981. Vol. 86B. - P. 1180-1184.

278. Demirezer, L.O. HPLC Fingerprinting of Sennosides in Laxative Drugs with Isolation of Standard Substances from Some *Senna* Leaves / L.O. Demirezer, N. Karahan1, E. Ucakturk, A. Kuruuzum-Uz, Z. Guvenalp, C. Kazaz // Rec. Nat. Prod. 2011. - Vol. 5, No. 4. - P. 261-270.

279. De Witte, P. Metabolism and pharmacokinetics of the anthranoids / P. De Witte. - Pharmacology. – 1993. - 47 (Suppl. 1). – P. 86-97.

280. Dreessen, M. The metabolism of sennosides A and B by the intestinal microflora: *in vitro* and *in vivo* studies on the rat and the mouse / M. Dreessen, H. Eyssen, J. Lemli // J. Pharm. Pharmacol. – 1981. - Vol. 33, No. 10. - P. 679-681.

281. Demuth, G. Investigations on anthrachinonglycosides of *Rhamnus* species. V. Emodin-8-O-β-gentiobioside, a new O-glycoside from *Rhamnus frangula* / G. Demuth, H. Hinz, O. Seligmann, H. Wagner // Planta Medica. - 1978. - Vol. 33, No. 1. - P. 53-56.

282. Ebel, S. Differenzierte Bestimmung von Anthrachinonderivaten und Glycosiden / S. Ebel, M. Kaal // Planta Medica. – 1977. - Vol. 32, No. 1. - P. 27-29.

283. Ebel, S. Zur Analytik von Anthrachinondrogen. I. Hydrolyse der Glycoside direct auf der DC-Platte / S. Ebel, M. Kaal // Planta Medica. – 1980. - Vol. 40, No. 3. - P. 271-277.

284. European Pharmacopoeia. - 4-th Ed. - Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 2002. – P. 1224-1225.

285. Fairbairn, J.W. Biological assay and its relations to chemical structure / J.W. Fairbairn. – Pharmacology. - 1976. - Vol. 14, Suppl. 1. - P. 48-61.

286. Forgacs, E. Molecular Bases of Chromalographic Separation / E. Forgacs, T. Cserhati. - Springer-Verlag, Heidelberg, Germany. – 1997. – P. 288.

287. Forni, G.P. Utilisation de la HPLC pour la determination des heterosides hydroxyanthraceniques. Groupe polyphenols. Resumes conf. et commun. Assem gen. annu / G.P. Forni. - Nancy, 1978.

288. Forth, W. Allgemeine and spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 2 Auff. B.I. / W. Forth, D. Henschler, W. Rummer. – Wissenschaftsverlag, Mannheim. - 1977. - S. 49.

289. Godding, E.W. Therapeutics of laxative agents with special reference to the anthraquinones / E.W. Godding // Pharmacology. – 1976. - 14 (Suppl. 1). - P.78-101.

290. Godwin, H. *Frangula alnus* Miller (*Rhamnus frangula* L.) / H. Godwin // No. 368. Journal of Ecology. - 1943. - Vol. 31. - P. 77-92.

291. Godwin, H. *Rhamnaceae*: *Rhamnus cathartica* L., *Frangula alnus* Miller (*Rhamnus frangula* L.) / H. Godwin // No. 367-368. Journal of Ecology. - 1943. - Vol. 31. - P. 66-67.

292. Kommerell, B. Unerwunschte Arzneiwerkungen bei Laxantienabus / B. Kommerell. – Therapiewoche. - 1979. – Bd. 29. - S. 4667-4668; 4671-4672.

293. Kubiak, M. Dynamika gromadzenia antrazwiazkow w korze kruszyny pospolitej (*Rhamnus frangula* L.) / M. Kubiak // Herba Polonica. - 1977. – Vol.23, No. 4. - P. 307-312.

294. Kubiak, M. Metoda rozdrielczego oznaczenia glownych zwiazkow czynnych kory kruszyny pospolitej (Rhamnus frangula L.) / M. Kubiak. - Herba Pol. - 1977. - Vol. 23. No 3. - P. 217-224.

295. Kurkin, V.A. Anthraquinones and naphthalene derivatives of *Rumex confertus* / V.A. Kurkin, N.V. Zaitseva, E.V. Avdeeva, E.D. Daeva, V.I. Kadentsev // Chemistry of Natural Compounds. – 2013. - № 1. – P. 135-136.

296. Kurkin, Vladimir Quantitative Determination of Total Anthracene Derivatives in Frangula Syrup Preparation / Vladimir Kurkin, Anna Shmygareva, Tatyana Ryazanova, Anatoliy Sankov // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2014. - №48 (7). – P. 467-469.

297. Kurkin, Vladimir Quantitative Determination of Total Anthracene Derivatives in Senna Syrup Preparation / Vladimir Kurkin, Anna Shmygareva, Tatyana Ryazanova, Anatoliy Sankov // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2017. - № 50 (10). - P 691-694.

298. Kurkin, Vladimir. The development of new approaches to standardization of *Cassia acutifolia* leaves / Vladimir Kurkin, Anna Shmygareva // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Studies. - 2014. – Vol. 3, No. 3. - P. 163-167.

299. Kurkin, Vladimir The development of new approaches of standardization of the species "the Siberian swallow / Vladimir Kurkin, Anna Shmygareva // Journal of Medicinal Plants Studies. - 2014. - № 2(3). - P. 25-30.

300. Labadie, R.P. Enzymatic hydrolysis of anthraglycosides on thin layer chromatograms / R.P. Labadie, M.B.M. Morrien // Pharm. Weekbl. – 1978. - Vol. 113, No. 1. - P. 1-9.

301. Lemli, J. Les heterosides anthroniques de Cassia anqustifolia pendant le developpement de la plante / J. Lemli, J. Cuveele. - Phytochemistry. - 1975. - Vol. 14, No 5-6. - P. 1397-1401.

302. Lemmens, L. Determination of dihydroxydianthrones by densitometry after thin-layer chromatographic separation / L. Lemmens // J. Chromatogr. - 1977. - Vol. 132, No. 2. - P. 363-365.

303. Leung, A.Y. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics, 2nd ed. / A.Y. Leung, S. Foster. - New York, NY, John Wiley & Sons, 1996.

304. Li, X. Rubiacordone A: A New Anthraquinone Glycoside from the Roots of Rubia cordifolia / X. Li, Zh. Liu, Yu. Chen, L.-Ju. Wang, Y.-N. Zheng, G.-Zh. Sun, Ch.-Ch. Ruan // Molecules. – 2009. – No. 14. – P. 566-572.

305. Liu, R. Preparative isolation and purification of hydroxyanthraquinones and cinnamic acid from the Chinese medicinal herb *Rheum officinale* Bill. by high-speed counter-current chromatography / R. Liu, A. Li, A. Sun // Journal of Chromatography A. - 2004. - Vol. 1052. - P. 217–221.

306. Mabry, T.J. The Systematic Identification of Flavonoids / T.J. Mabry, K.R. Markham, M.B. Thomas. - Berlin; Heidelberg; New York, 1970. – 354 p.

307. McClain, Bill. 1996. *Rhamnus frangula*-smooth or glossy buckthorn. In: Randall, John M.; Marinelli, Janet, eds. Invasive plants: Weeds of the global garden / Bill. McClain. - Handbook 149. Brooklyn, NY: Brooklyn Botanic Garden: 65.

308. Muhlemann, H. Anthraquinone and anthraquinone glycosides. I. Contents of *Rhamnus frangula* bark / H. Muhlemann // Pharm Acta Helv. - 1955. Vol. 30, No. 9. – P. 350-355.

309. Muzychkina, R.A. Natural Anthraquinones. Biological properties and physicochemical characteristics / Ed. by G.A. Tolstikov. - Moscow: PHASIS, 1998. – 864 p.

310. Post, T.W. One-year study of fire effects on *Rhamnus frangula* L. / T.W. Post, K.F. Klick // Natural Areas Journal. - 1988. - Vol. 8, No. 2. - P. 120-121.

311. Post, Thomas W.; McCloskey, Elizabeth; Klick, Kenneth F. Two-year study of fire effects on *Rhamnus frangula* L. // Natural Areas Journal. - 1989. -Vol. 9, No. 3. - P. 175-176.

312. Quercia, V. HLPC in the determination of some anthraquinone glycosides / V. Quercia // Pharmacology. - 1980. - Vol. 20, Suppl. 1. - P. 76-82.

313. Rai, P.P. Thin-layer densitometric determination of individual dehydroxyanthraquinone derivatives / P.P. Rai // Chromatographia. - 1980. - Vol. 13, No. 12. - P. 763-764.

314. Sakulpanich, A. Determination of Anthraquinone Glycoside Content in *Cassia fistula* Leaf Extracts for Alternative Source of Laxative Drug / A. Sakulpanich, W. Gritsanapan // International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences. - 2009. - Vol. 3, No. 1. - P. 42-45.

315. Sharmaand, M. Pharmacognostical Characterization of Some Selected Medicinal Plants of Semi-Arid Regions / M. Sharmaand A. Kumar // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. – 2013. - Vol. 1, No. 6. – P. 216-228.

316. Shmygareva, A.A. Comparative IR-spectrophotometry of laxatives herbal preparations based on bark of Frangula alnus Mill. and on fruits of Rhamnus cathartica L. / A.A. Shmygareva, V.A. Kurkin, A.N. Sankov // Journal of Medicinal Plants Studies. – 2015. - № 3(4). - P. 20-22.

317. Shmygareva, A.A. Fourier Transform Infrared Spectroscopy of Herbal Preparations Based on Leaves and Fruits of Senna alexandrina Mill./ A.A. Shmygareva, V.A. Kurkin, A.N. Sankov // International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical research. – 2016. - № 8 (9). - P. 1478-1480.

318. Shmygareva, A.A. Fourier Transform Infrared Spectroscopy of Herbal Preparations Based on Rhizome with Roots of Rubia tinctorum L ./ A.A. Shmygareva,

V.A. Kurkin, A.N. Sankov // International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical research. – 2016. -8 (7). - P. 1118-1120.

319. Shmygareva, A.A. IR-Spectrophotometry of Laxatives Herbal Preparations Based on Bark of Frangula Alnus Mill. / A.A. Shmygareva, V.A. Kurkin, A.N. Sankov // International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical research. – 2015. - № 7(4). - P. 653-655.

320. Shmygareva, A.A. Quantitative Determination of Total Anthracene Derivaties in Rhamnus Syrup Preparation / A.A. Shmygareva, V.A. Kurkin, A.N. Sankov // International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical research. – 2015. - № 7(4). - P. 669-672.

321. Shmygareva, A.A. Quantitative Determination of Total Anthracene Derivaties in Rubia Syrup Preparation / A.A. Shmygareva, V.A. Kurkin, A.N. Sankov // International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical research. – 2016. - №8 (2). - P.332-334.

322. Shmygareva, A.A. The Development of New Approaches of Standardization of Rubia tinctorum rhizomata et radices / A.A. Shmygareva, V.A. Kurkin, A.N. Sankov // International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical research. – 2016. - №8 (3). - P. 415-418.

323. Shmygareva, A.A. Validated High-performance Liquid Chromatography Method for Quantitative Determination of Anthracenderivatives in Decoction, Syrup and Water-alcohol Extract of Frangula alnus Mill. Bark / A.A. Shmygareva, V.A. Kurkin, A.N. Sankov // International Journal of Pharmaceutical quality assurance. – 2016. - № 7 (3). - P. 35-38.

324. Shmygareva, A.A. Validated high-performance liquid chromatography method for quantitative determination of anthracenderivatives in decoction, syrup and water-alcohol extract of Rhamnus cathartica L. fruits / A.A. Shmygareva, V.A. Kurkin, A.N. Sankov // International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical research. – 2016. - №8, (4). - P.683-685.

325. The Flavonoids: Advances in Research / Ed. by Harborne J.B., Mabry T.J. - London; New York: Chapman and Hall. - 1982. - 744 p.

326. Thompson, W.G. Laxatives: clinical pharmacology and rational use / W.G. Thompson. – Drugs, Basel, 1980. - Vol. 19, No. 1. - P. 49-58.

327. Touchslone, J.C. Practice of Thin Layer Chromatography, 3rd Ed / J.C. Touchslone. - John Wiley & Sons, New York. U.S.A, 1992. – P. 416.

328. Trease, Evans W.C. Pharmacognosy. – 16th edition. Edinburgh – London – New York – Philadelphia – St. Louis Sydney – Toronto: Saunders Elsevier, 2009. - 603 p.

329. Tyler, V.E. The new honest herbal / V.E. Tyler. - George F. Stickley Company, Philadelphia, 1987.

330. United States Pharmacopeia. The United States Pharmacopeial Convention, 2009. - 1792 p.

331. Van, Os F.H.L Anthraquinone derivatives in vegetable laxatives / Os F.H.L Van. // Pharmacology. - 1976. - Vol. 14, Suppl. 1. - P. 7-17.

332. Van, Os F.H.L. Some aspects of the pharmacology of antharaquinone drugs / Os F.H.L Van. – Pharmacology. - 1976. - Vol.14. - Suppl. 1. - P. 18-29.

333. Vyth, A. Detection of anthraquinone laxatives in the urine / A. Vyth, P.E. Kamp. - Pharm, Weekbl. Sci. Ed. - 1979 - Vol. 1, No 4. - P. 456-459.

334. Wagner, H. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas / H. Wagner, S. Bladt. - Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag, 1996. - 384 p.

335. Wagner, H. Pharmazeutische Biologie. Drogen und ihre Inhaltsstoffe / H. Wagner. - Stuttgart-New York: Gustav Fischer Verlag, 1993. – 522 p.

336. WHO monographs on selected medicinal plants. Vol. I. Geneva, World Health Organization, 1999.

337. Youngken, H.W. Textbook of pharmacognosy, 6th ed. Philadelphia / H.W. Youngken. - PA, Blakiston, 1950.

338. Zwaving, J.N. Recent developments in the analysis of anthraquinone derivatives / J.N. Zwaving // Pharmacology - 1980. - Vol. 20. - Suppl. 1. - P. 65-75.

ПРИЛОЖЕНИЯ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2557929

СИРОП КРУШИНЫ ЛОМКОЙ

Патентообладатель(ли): ***Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)***

Автор(ы): ***см. на обороте***

Заявка № **2014113074**

Приоритет изобретения **03 апреля 2014 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации ***30 июня 2015 г.***

Срок действия патента истекает **03 апреля 2034 г.**

Врио руководителя Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Л.Л. Кирий

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2582276

СИРОП ИЗ ПЛОДОВ ЖОСТЕРА СЛАБИТЕЛЬНОГО

Патентообладатель(ли): ***Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)***

Автор(ы): ***см. на обороте***

Заявка № **2015110374**

Приоритет изобретения **23 марта 2015 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации ***30 марта 2016 г.***

Срок действия патента истекает **23 марта 2035 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2582982

СИРОП ИЗ ЛИСТЬЕВ СЕННЫ ОСТРОЛИСТНОЙ

Патентообладатель(ли): ***Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)***

Автор(ы): ***см. на обороте***

Заявка № **2015110376**

Приоритет изобретения **23 марта 2015 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации ***06 апреля 2016 г.***

Срок действия патента истекает **23 марта 2035 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего
профессионального образования
**«Самарский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ГБОУ ВПО СамГМУ
Минздрава России)**

**ул. Чапаевская, 89, г. Самара, 443099
тел.: (846) 332-16-34, факс: (846) 333-29-76
E-mail: info@samsmu.ru
ОГРН 1026301426348
ИНН 6317002858**

15.05.2013 № 1230/01-37-1496
На №_____от_____

Генеральному директору ФГБУ
«Научный центр экспертизы
средств медицинского применения»,
доктору медицинских наук,
профессору **А.Н. МИРОНОВУ**

127051, г. Москва,
Петровский бульвар, 8, строение 2

Глубокоуважаемый Александр Николаевич!

Ректорат государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации направляет Вам на рассмотрение с целью утверждения проекта фармакопейной статьи (ФС) на лекарственное растительное сырье «Крушины ломкой кора» и пояснительную записку к ФС для включения в Государственную Фармакопею Российской Федерации XII издания.

При этом ректорат Самарского государственного медицинского университета выражает Вам глубокую благодарность за плодотворное сотрудничество.

Приложение: 1. Проект ФС «Крушины ломкой кора» - 2 экз.
2. Пояснительная записка к ФС - 2 экз.

Проректор по научной и иннвационной работе
ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России,
заслуженный деятель науки РФ,
профессор Н.Н. КРЮКОВ

КАНЦЕЛЯРИЯ
ФГБУ «НЦЭСМП»
Минздравсоцразвития России
Вх. № 7557
От 17 МАЙ 2013

государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего
профессионального образования
**«Самарский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ГБОУ ВПО СамГМУ
Минздрава России)**

**ул. Чапаевская, 89, г. Самара, 443099
тел.: (846) 332-16-34, факс: (846) 333-29-76
E-mail: info@samsmu.ru
ОГРН 1026301426348
ИНН 6317002858**

15.05.2013 № 1230/01-37-1497
На № _____ от _____

Генеральному директору ФГБУ
«Научный центр экспертизы
средств медицинского применения»,
доктору медицинских наук,
профессору **А.Н. МИРОНОВУ**

127051, г. Москва,
Петровский бульвар, 8, строение 2

Глубокоуважаемый Александр Николаевич!

Ректорат государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации направляет Вам на рассмотрение с целью утверждения проекта фармакопейной статьи (ФС) на лекарственное растительное сырье «Жостера слабительного плоды» и пояснительную записку к ФС для включения в Государственную Фармакопею Российской Федерации XII издания.

При этом ректорат Самарского государственного медицинского университета выражает Вам глубокую благодарность за плодотворное сотрудничество.

Приложение: 1. Проект ФС «Жостера слабительного плоды» - 2 экз.
2. Пояснительная записка к ФС - 2 экз.

Проректор по научной и иннвационной работе
ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России,
заслуженный деятель науки РФ,
профессор Н.Н. КРЮКОВ

КАНЦЕЛЯРИЯ
ФГБУ «НЦЭСМП»
Минздравсоцразвития России
Вх. № 7555
От 17 МАЙ 2013

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УТВЕРЖДАЮ

Директор Центра фармакопеи и международного сотрудничества ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», доктор фармацевтических наук, профессор

_____**Е.И. САКАНЯН**

«___» _____ 2015___ г.

СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Производитель: ЗАО «Самаралектравы» (п. Антоновка, Самарская область)
Заявитель и разработчик: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Крушины ломкой кора
Frangulae alni cortex

ФС.2.5.0021.15
Взамен ФС 2 ГФ СССР XI издания

Срок введения установлен
с "__" _____г.
до "__" _____г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на воздушно-сухую измельченную кору крушины ломкой – *Frangula alnus* Mill., семейство Крушиновые - *Rhamnaceae.*

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

Спецификация лекарственного растительного сырья

«Крушины ломкой кора»

ЗАО «Самаралектравы», п. Антоновка

№ п/п	Показатель качества	Нормируемое значение	Используемый метод
1	2	3	4
1	Внешние признаки	Соответствие морфологическим признакам	Просмотр невооруженным глазом и под лупой с увеличением (10х)
2	Микроскопия	Соответствие анатомическим признакам	Просмотр под микроскопом с увеличением (не менее 40×)
3	Качественные реакции:	1. На хроматограмме при нанесении раствора А, приготовленного для количественного определения, должно обнаруживаться доминирующее пятно с величиной R_f~0,7 (на уровне пятна ГСО франгулина А); допускается наличие других пятен. 2. Спектр поглощения раствора Б, приготовленного для количественного определения, в области от 190 до 600 нм имеет единственный максимум поглощения λ_{max} = 524 нм ±2 нм (антраценпроизводные). 3.Время удерживания франгулина А τ_R около 4 мин	ТСХ-анализ Спектрофотометрия; ВЭЖХ-анализ;
Числовые показатели			
4	Количественное определение	Сумма антраценпроизводных в пересчете на франгулин А: не менее 5 %;	Спектрофотометрия
5	Влажность	не более 15 %	ГФ XI, вып. 1, стр. 285
6	Золы общей	не более 5,0 %	ГФ XI, вып. 2, стр. 24
7	Золы,	не более 0,6 %	ГФ XI, вып. 2, стр. 25

	нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты		
8	Минеральной примеси	не более 0,5 %	Весовой
9	Органической примеси	не более 0,5 %	Весовой
10	Кусков коры, покрытых кустистыми лишайниками	не более 1 %	Весовой
11	Кусков коры с остатками древесины	не более 1 %	Весовой
12	Кусков коры толще 2 мм	не более 3 %	Весовой
Другие показатели качества			
13	Микробиологическая чистота	Категория 3 Б	В соответствии с ГФ XI, вып. 2, стр. 193 и Изменением Изменение к ГФ XI от 28.12.95).
14	Отклонение средней массы от номинальной	*Измельченное сырье и порошок*: отклонение от номинальной массы в пачке не должно быть более ± 5 %	Весовой (по ОСТ 64-4-338-85)
15	Содержание радионуклидов	В соответствии с требованиями ВДУ ГН 2.6.005-93	Радиационный контроль
16	Упаковка	В соответствии с ГОСТ 6077-80 и ГОСТ 17768-90. Ангро - по ГОСТ 2226-88 и ГОСТ 30090-93 не более 20 кг нетто. По 100 г и 50 г по ГОСТ 12303-80. Транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90.	Визуальный
17	Маркировка	В соответствии с ГОСТ 17768-90 и ГОСТ 6077-80 со следующим дополнением: указывают массу, условия хранения, регистрационный номер, штрих-код,	Визуальный

		соответствие продукции требованиям ВДУ ГН 2.6.005-93 по содержанию радионуклидов. Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96.	
18	Срок годности	5 лет.	

Внешние признаки. Трубчатые или желобовидные куски коры различной длины, толщиной 0,5-2мм. Наружная поверхность коры более или менее гладкая (молодая кора) или шероховатая (старая кора), темно-бурая, серо-бурая, темно-серая или серая, часто с беловатыми поперечно-вытянутыми чечевичками или серыми пятнами: при легком соскабливании наружного пробкового слоя открывается красный слой пробки. Внутренняя поверхность гладкая, желтовато-оранжевого или красно-бурого цвета. Излом светло-желтый, равномерно мелкощетинистый (лупа 10×). Запах сырья слабый, вкус горьковатый.

Микроскопия. Цельное сырье.

Исследования морфолого-анатомического строения изучаемого сырья крушины (коры) проводили с использованием цифрового микроскопа Motic DM111 (с кратностью увеличения 4x10; 10x10; 40x10; 100x10) и цифрового стереоскопического микроскопа Motic DM-39C-N9GO-A (возможность увеличения: x 20; x 40). Приготовление микропрепаратов проводили в соответствии с ГФ СССР XI издания.

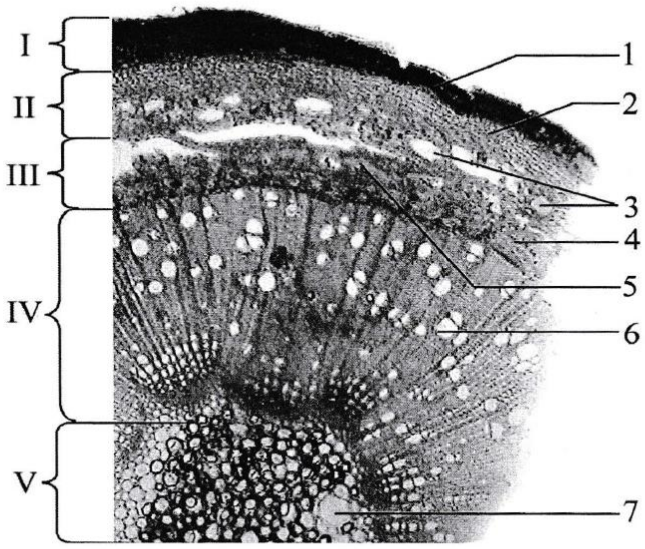


Рисунок 1 - Поперечный срез двухлетнего побега крушины ломкой (х40):
I. Покровные ткани.

II. Ткани первичной коры.

III. Ткани вторичной коры (луб).

IV. Древесина.

V. Сердцевина.

1) пробка; 2) колленхима; 3) слизесодержащие вместилища в паренхиме первичной коры; 4) мягкий луб;

5) первичные волокнистые пучки; 6) сосуды древесины;

7) слизесодержащее вместилище в паренхиме сердцевины.

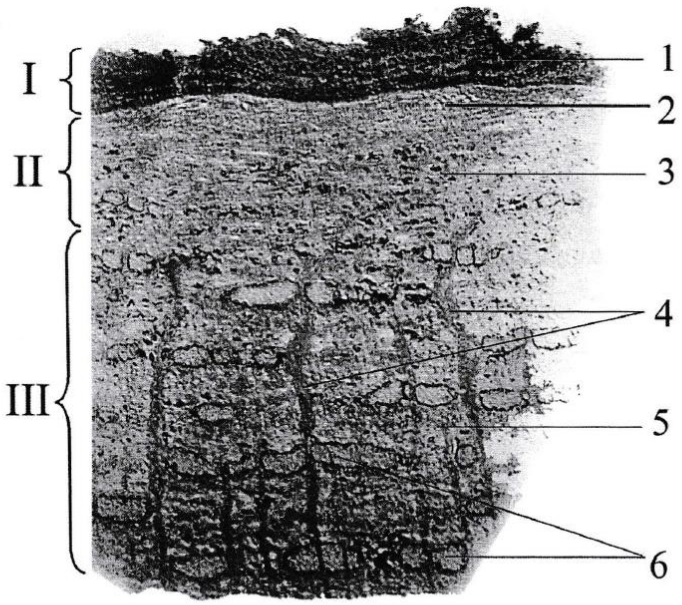


Рисунок 2 - Поперечный срез коры крушины ломкой (х40).
I. Покровные ткани.
II. Ткани первичной коры.
III. Ткани вторичной коры (луб).
1) пробка; 2) колленхима; 3) клетки паренхимы с друзами;
4) сердцевинные лучи; 5) мягкий луб; 6) группы лубяных волокон (твердый луб).

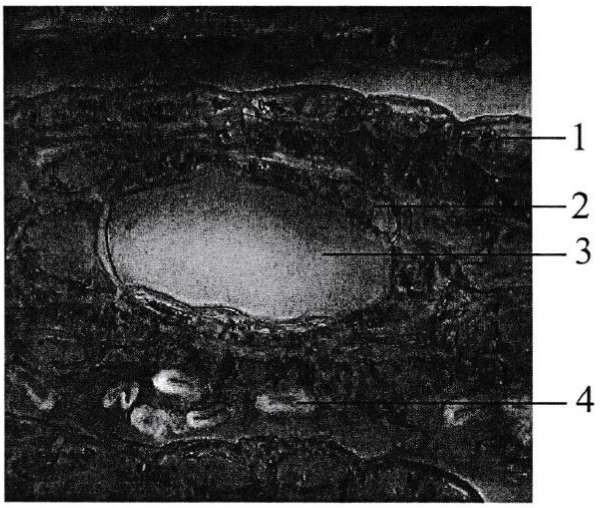


Рисунок 3 - Схизогенное вместилище в первичной коре стебля крушины ломкой (окраска раствором сернокислого анилина) (х400):
1) Клетки паренхимы; 2) выстилающие клетки вместилища; 3) полость; 4) первичные механические волокна.

Покровные ткани представлены пробкой, первичная кора - колленхимой разной степени выраженности и локализации, а также паренхимой. Центральный цилиндр составляют ткани вторичной коры, содержащей элементы твердого и мягкого луба разной степени развития, древесина и паренхима сердцевины. *Пробка* темно-коричневого цвета сложена из 15-20 рядов (рисунок 1). Ткани первичной коры представлены несколькими слоями клеток *колленхимы*, у крушины она хорошо диагностируется, содержит *слизесодержащие вместилища*, расположенные в кругу побега (рисунок 1). Вторичная кора начинается с первичных механических не одревесневших волокон склеренхимы характерной, округлой, слегка смятой формы, образующих круг разрываемый клетками паренхимы (рисунок 1). Вторичная кора молодых побегов уже содержит одревесневшие механические волокна (*твердый луб*) камбиального

происхождения. Вторичная кора и древесина пронизана в радиальном направлении узкими *сердцевинными лучами* (рисунок 1). В крушине сосуды расположены в радиальных группах (от 1 до 3-х) достаточно равномерно в течение годичного кольца (рис. 1).

Для уточнения диагностических признаков гистологическому анализу подверглись образцы коры, заготовленные с веток 7–10 лет. На поперечном срезе коры крушины ломкой виден слой пробки, состоящей из 15-20 слоев клеток (рис. 2). Внутреннее содержимое клеток пробки темно-красного цвета. Ниже перидермы расположены характерно-утолщенные клетки колленхимы уголково-пластинчатого типа. Колленхима первичной коры, представленная слоями клеток (3-5 рядов), чередуется с паренхимными клетками с тонкостенными, равномерно утолщенными оболочками (рис. 2).

Основная паренхима наружной, первичной коры представлена овальными клетками, как правило, изодиаметрической формы. В ней изредка встречаются слизесодержащие вместилища, которые граничат с группами первичных механических волокон неодревесневшей склеренхимы, расположенной над лубом. Механические волокна первичной коры немногочисленны (рис. 3). Во вторичной коре (лубе) видны узкие одно-, двухрядные, прямые или изогнутые по форме сердцевидные лучи паренхимы. В клетках коры крушины ломкой в большом количестве встречаются друзы оксалата кальция, изредка призматические монокристаллы ромбической формы.

Качественные реакции. 1. УФ-спектр раствора А (см. раздел "Количественное определение") должен иметь максимум поглощения при длине волны $\lambda_{max} = 524 \pm 2$ нм (антраценпроизводные) (рис. 4).

2. На ВЭЖХ-хроматограмме раствора (раствор А раздела «Количественное определение») при детектируемой длине волны 420 нм должен быть определен доминирующий пик с временем удерживания около

4 мин и соответствовать времени удерживания на хроматограмме раствора РСО франгулина А.

3. На линию старта пластинки «Сорбфил–ПТСХ-АФ-А-УФ» микропипеткой наносят 0,02 мл извлечения (см. раздел «Количественное определение») и 0,02 мл 0,05 % раствора ГСО франгулина А в виде пятен диаметром около 5 мм. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в хроматографическую камеру, которую предварительно насыщают смесью растворителей хлороформ-метанол-вода (26:14:3) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 8 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение в течение 5 мин. При просмотре хроматограммы в УФ-свете при длине волны 254 нм обнаруживается доминирующее пятно оранжево-красного цвета на уровне пятна ГСО франгулина А с величиной R_f около 0,7; допускается наличие других пятен.

При проявлении хроматограммы щелочным раствором ДСК (ГФ X, стр. 876) также обнаруживается доминирующее пятно с величиной R_f~0,7 (на уровне аналогичного пятна ГСО франгулина А); допускается наличие других пятен.

Примечания:

1. *Приготовление раствора ГСО франгулина А.* См. раствор А в разделе "Количественное определение". Срок годности раствора 1 мес.
2. *Подготовка пластинок.* Пластинки "Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ" (ТУ 26-11-17-89) разрезают поперек линий накатки соответственно на 2 части 10 × 5 см и перед использованием активируют в сушильном шкафу при 110 ^{O}C в течение 1 ч.
3. *Приготовление раствора диазобензолсульфокислоты.* 0,01 г диазобензолсульфокислоты (ГФ X, стр. 876) растворяют в 10 мл 10 % раствора натрия карбоната. Раствор используют свежеприготовленным.

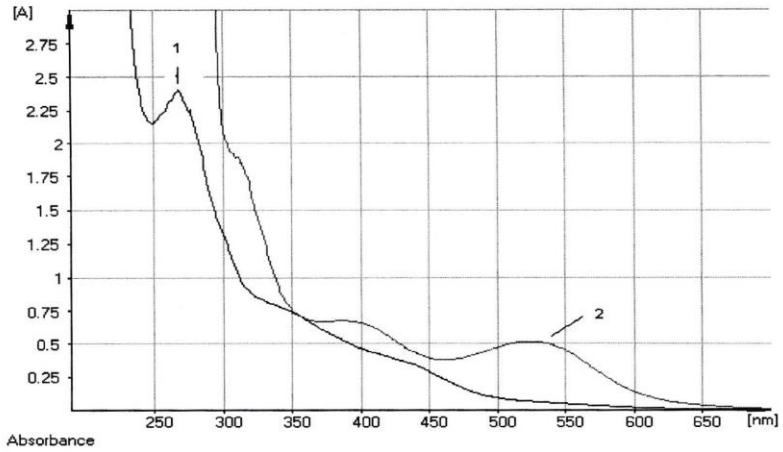


Рисунок 4 - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из коры крушины ломкой

Числовые показатели. Ц е л ь н о е с ы р ь е. Сумма антраценпроизводных в пересчете на франгулин А не менее 5 %, влажность не более 15 %, золы общей не более 5,0 %, органических примесей не более 0,5 %, минеральной примеси не более 0,5 %.

И з м е л ь ч е н н о е с ы р ь е. Сумма антраценпроизводных в пересчете на франгулин А не менее 5 %, влажность не более 15 %, золы общей не более 5,0 %, органических примесей не более 0,5 %, минеральной примеси не более 0,5 %.

Количественное определение. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 40% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до ±0,01. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса) и охлаждают в течение 30 мин. Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного

извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор А). Испытуемый раствор А помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 524 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

Примечание: *Приготовление раствора франгулина А-стандартного образца.* Около 0,02 (точная навеска) франгулина А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А франгулина А). 1 мл раствора А франгулина А помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 528 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную. Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на франгулин А и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * m_0 * 50 * 1 * 50 * 100 * 100}{D_0 * m * 50 * 1 * 25 * (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_o – оптическая плотность раствора ГСО франгулин А;

m – масса сырья, г;

m_o – масса ГСО франгулина А, г;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

Упрощенная формула расчета как альтернатива:

$$X = \frac{D * 50 * 50 * 100}{m * 180 * (100 - W)}$$

180 – это удельный показатель поглощения (в Европейской фармакопее для глюкофрангулина А – 204).

Микробиологическая чистота. В соответствии с ГФ XI, вып. 2, С. 187 и Изменением № 3 к ГФ XI от 19.06.03 г., категория 3Б.

Упаковка. В соответствии с ГОСТ 6077-80 и ГОСТ 17768-90. Ангро - в двойные мешки: внутренний - бумажный многослойный по ГОСТ 2226-88, наружный - тканевый по ГОСТ 30090-93 не более 20 кг нетто.

По 100 г и 50 г в пачки картонные тип 1-4 по ГОСТ 12303-80, изготовленные из картона типа «хром-эрзац» импортного или марки МО по ТУ 13-0281020-97-90, или МОО по ТУ 5453-015-04766356-95. В каждую пачку вкладывается инструкция по применению.

Транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90.

Брутто транспортной тары не более 15 кг.

При фасовке по 100 г: содержимое трех пачек, взятых из средней пробы, взвешивают и вычисляют среднюю массу сырья в одной упаковке. Отклонение от номинальной массы не должно превышать ± 5 % (в соответствии с ОСТ 64-4-338-85.

Маркировка. В соответствии с ГОСТ 17768-90. На пачке указывают предприятие-изготовитель и его товарный знак, название лекарственного средства на латинском и русском языках, массу при влажности 12 %, назначение, способ употребления, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, штрих-код, срок годности, условия отпуска «Безрецептурный», соответствие продукции требованиям ВДУ ГН 2.6.005-93 по содержанию радионуклидов «Продукция прошла радиационный контроль СанПиН 2.3.2.560-96».

Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-77.

Транспортирование. В соответствии с ГОСТ 17768-90 и ГОСТ 6077-80.

Хранение. В соответствии с ГОСТ 6077-80 и ГФ XI, вып. 1, с. 296.

Срок годности. 5 лет.

Фармакологическая группа. Слабительное средство.

Примечание. Реактивы и методики определения числовых показателей, приведенные в настоящей фармакопейной статье, описаны в соответствующих разделах Государственной фармакопеи СССР X и XI издания, вып. 1, 2.

Ректор ГБОУ ВПО СамГМУ
Минздрава России,
Академик РАН, лауреат Государственной
премии РФ и дважды лауреат премии
Правительства РФ,
заслуженный деятель науки РФ,
профессор Г.П. Котельников
«15» 05 2015 г.

Зав. кафедрой фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии
ГБОУ ВПО СамГМУ
Минздрава России,
профессор В.А. Куркин
«15» 05 2015 г.

Аспирант кафедры фармации
ГБОУ ВПО ОрГМУ
Минздрава России А.А. Шмыгарева
«15» 05 2015 г.

Генеральный директор
ЗАО «Самаралектравы» Н.Д. Лужнов
«___» _____ 2015 г.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УТВЕРЖДАЮ

Директор Центра фармакопеи и международного сотрудничества ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», доктор фармацевтических наук, профессор

_____Е.И. САКАНЯН

«___» _____ 2015___ г.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Заявитель и разработчик: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Жостера слабительного плоды	**ФС.2.5.0014.15**
Rhamni catharticae fructus	взамен ФС 37 ГФ СССР XI издания

Срок введения установлен

с "__" _____г.

до "__" _____г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на воздушно-сухие цельные плоды жостера слабительного – *Rhamnus cathartica* L., семейство Крушиновые - *Rhamnaceae.*

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

Внешние признаки. Ц е л ь н о е с ы р ь е. Плоды – округлые костянки с блестящей морщинистой поверхностью, диаметром 5-8 мм, с небольшим малозаметным остатком столбика и с сохранившейся плодоножкой или углублением на месте ее отрыва. Мякоть бурая, с 3-4 (реже 2) темно-бурыми косточками с твердой кожурой, трехгранной или яйцевидной формы. Цвет плодов почти черный. Запах слабый, неприятный. Вкус водного извлечения сладковато-горький.

Микроскопия. Ц е л ь н о е с ы р ь е. Эпидермис жостера слабительного состоит из мелких, толстостенных, полигональных клеток. На поверхности эпидермы встречаются небольшие устьица, окруженные тремя рядами несколько сжатых клеток. При рассмотрении на поперечном срезе заметно, что наружная и внутренняя стенки эпидермальных клеток утолщены более боковых. За эпидермой локализована колленхима, представленная несколькими рядами клеток. Клетки колленхимы двух наружных рядов крупнее и более толстостенные.

В них, как правило, имеется пигмент коричневого цвета, дающий реакцию на дубильные вещества (с раствором алюмокалиевых квасцов) (рис. 1).

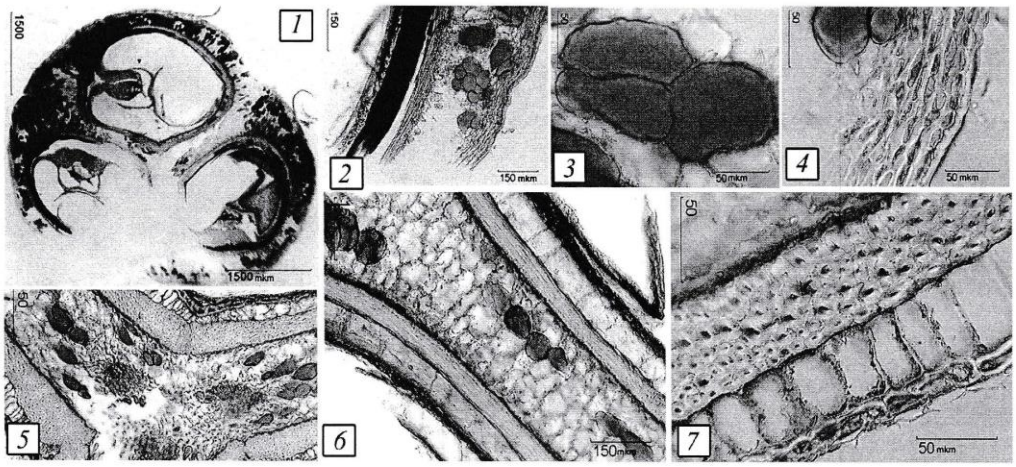


Рисунок 1 – Плод жостера слабительного. Поперечный срез.
Обозначения: 1 – общий вид с семенными полостями (х40); 2 – паренхима перегородки (х100); 3 – клетки паренхимы с пигментом (х400); 4 – экзокарпий (х400); 5 – сердцевина плода (х100); 6 – семенная перегородка (х100); 7 - склеренхима (х400).

За колленхимой следует паренхима мезокарпа, в которой на границе наружной трети или половины толщины плодовой стенки располагается 1 ряд проводящих пучков. В паренхимных клетках обнаруживаются друзы оксалата кальция. Среди паренхимы разбросаны одиночные или собранные группами идиобласты тоже с коричневым содержимым; они чаще более густо расположены вдоль проводящих пучков (рис. 1 – *1,2*). При полном созревании плодов (в сентябре-октябре) содержимое идиобластов осветляется, а клетки всей мякоти мезокарпа – в большой или меньшей степени ослизняются (рис. 1 – *3,4*).

Эндокарпий начинается рядом мелких кристаллоносных клеток, покрывающих ряд толстостенных склереид. За ними следуют слой волокон, ориентированных преимущественно в поперечном направлении, и тонкостенные клетки внутреннего эпидермиса с коричневым содержимым, представленным дубильными веществами (рис. 1 – *6,7*).

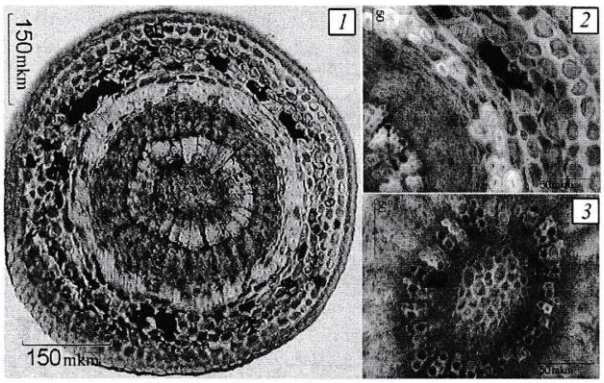


Рисунок 2 - Поперечный срез плодоножки жостера.
Обозначения: 1 – Общий вид плодоножки (х100); 2 – фрагмент коровой части с пигментом и склеренхимой (х400); 3 – фрагмент сердцевины плодоножки.

Кожура семени плода жостера тонкая, плотно соединенная с эндокарпом. Эпидермис ее состоит из каменистых клеток. Под ним находится тонкостенная паренхима, заканчивающаяся у зародыша семени рядом клеток с заметной пористостью. Вся кожура, за исключением эпидермиса, в зрелых семенах может спадаться до полной нереализованности

ее структуры. Эндосперм и зародыш содержат в клетках алейроновые зерна и масло (рис. 1 – *2,4*).

Поперечный срез плодоножки жостера имеет строго округлую форму. Плодоножки жостера покрыты эпидермисом с толстым слоем кутикулы, имеющим исходно желтую окраску, обусловленную вероятно пигментами антраценовой природы. Эпидермис не опушен (рис. 2).

Качественные реакции. 1. УФ-спектр раствора А (см. раздел "Количественное определение") должен иметь максимумы поглощения при длине волны λ_{max} = 264 ± 2 нм и 368 ±2 нм (флавоноиды) (рис. 3).

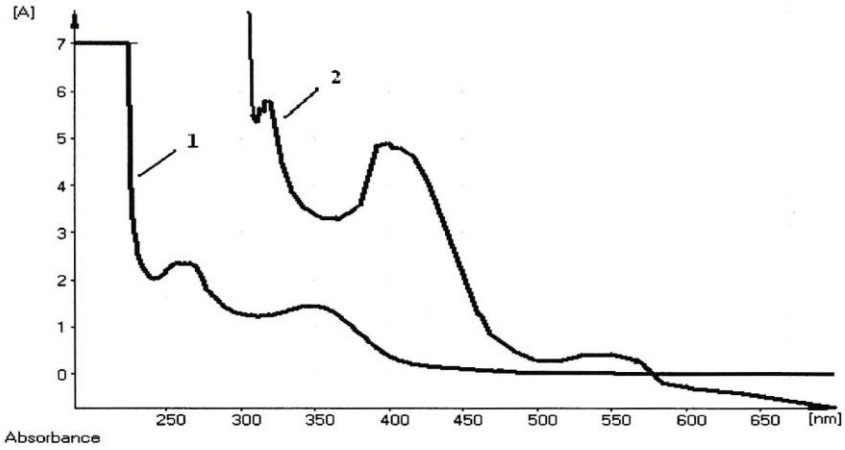


Рисунок 3 - Электронные спектры раствора водно-спиртового извлечения плодов жостера слабительного (1), щелочно-аммиачного раствора плодов жостера слабительного (2)

2. На ВЭЖХ-хроматограмме раствора (раствор А раздела «Количественное определение») при детектируемой длине волны 260 нм должен быть определен доминирующий пик с временем удерживания около 3,65 мин и соответствовать времени удерживания на хроматограмме раствора РСО 3-О-рутинозида рамнетина.

На ВЭЖХ-хроматограмме раствора (раствор А раздела «Количественное определение») при детектируемой длине волны 420 нм должен быть определен второй доминирующий пик с временем удерживания около 4 мин и соответствовать времени удерживания на хроматограмме раствора РСО франгулина А

3. На линию старта пластинки «Сорбфил–ПТСХ-АФ-А-УФ» микропипеткой наносят 0,02 мл извлечения (см. раздел «Количественное определение») и 0,02 мл 0,05 % раствора РСО 3-О-рутинозида рамнетина и франгулина А в виде пятен диаметром около 5 мм. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в хроматографическую камеру, которую предварительно насыщают смесью растворителей хлороформ-метанол-вода (26:14:3) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 8 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение в течение 5 мин. При просмотре хроматограммы в УФ-свете при длине волны 254 нм обнаруживается доминирующее пятно ярко-желтого цвета на уровне пятна РСО 3-О-рутинозида рамнетина с величиной R_f около 0,65; второе доминирующее пятно оранжево-красного цвета на уровне пятна ГСО франгулина А с величиной R_f около 0,7; допускается наличие других пятен.

При проявлении хроматограммы щелочным раствором ДСК (ГФ X, стр. 876) также обнаруживается два доминирующих пятна с величиной R_f~0,65 (на уровне аналогичного пятна РСО 3-О-рутинозида рамнетина) и пятно с величиной R_f~0,7 (на уровне аналогичного пятна РСО франгулина А); допускается наличие других пятен.

Примечания:

1. *Приготовление раствора ГСО франгулина А.* См. раствор А в разделе “Количественное определение”. Срок годности раствора 1 мес.
2. *Приготовление раствора РСО 3-О-рутинозида рамнетина.* Около 0,02 (точная навеска) 3-О-рутинозид рамнетина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А 3-О-рутинозида рамнетина)

2. *Подготовка пластинок.* Пластинки “Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ” (ТУ 26-11-17-89) разрезают поперек линий накатки соответственно на 2 части 10 × 5 см и перед

использованием активируют в сушильном шкафу при 110 ^{O}С в течение 1 ч.

Приготовление раствора диазобензолсульфокислоты. 0,01 г диазобензолсульфокислоты (ГФ X, стр. 876) растворяют в 10 мл 10 % раствора натрия карбоната.

Раствор используют свежеприготовленным.

Числовые показатели. Цельное сырье. Сумма антраценпроизводных в пересчете на франгулин А не менее 2,5 %, влажность не более 14 %, золы общей не более 4,0 %, органических примесей не более 2,0 %, минеральной примеси не более 0,5 %.

Количественное определение суммы антраценпроизводных в плодах жостера. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 40% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до ±0,01. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса) и охлаждают в течение 30 мин. Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор А). Испытуемый раствор А помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 524 нм. В качестве раствора сравнения раствор, полученный следующим образом: 1 мл извлечения (1:50) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки.

Примечание: *Приготовление раствора франгулина А-стандартного образца.* Около 0,02 г (точная навеска) франгулина А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А франгулина А). 1 мл раствора А франгулина А помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 524 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную. Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на франгулин А и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * m_0 * 50 * 1 * 50 * 100 * 100}{D_0 * m * 50 * 1 * 25 * (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_o – оптическая плотность раствора ГСО франгулина А;

m – масса сырья, г;

m_o – масса РСО франгулина А, г;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

Упрощенная формула расчета как альтернатива:

$$X = \frac{D * 50 * 50 * 100}{m * 180 * (100 - W)}$$

180 – удельный показатель поглощения раствора РСО франгулина А при длине волны 524 нм.

Микробиологическая чистота. Категория 4А. Должно быть не более 10^5 аэробных бактерий, не более 10^4 дрожжевых и плесневых грибов (ГФ РФ XII, ОФС 42-0016-04).

Тяжелые металлы. В соответствии с ОФС 42-0059-07.

Радиоактивность. В соответствии с ОФС 42-0073-07.

Упаковка. В соответствии с ГОСТ 6077-80 и ГОСТ 17768-90. Ангро - в двойные мешки: внутренний - бумажный многослойный по ГОСТ 2226-88, наружный - тканевый по ГОСТ 30090-93 не более 20 кг нетто.

По 100 г и 50 г в пачки картонные тип 1-4 по ГОСТ 12303-80, изготовленные из картона типа «хром-эрзац» импортного или марки МО по ТУ 13-0281020-97-90, или МОО по ТУ 5453-015-04766356-95. В каждую пачку вкладывается инструкция по применению.

Транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90.

Брутто транспортной тары не более 15 кг.

При фасовке по 100 г: содержимое трех пачек, взятых из средней пробы, взвешивают и вычисляют среднюю массу сырья в одной упаковке. Отклонение от номинальной массы не должно превышать ± 5 % (в соответствии с ОСТ 64-4-338-85.

Маркировка. В соответствии с ГОСТ 17768-90. На пачке указывают предприятие-изготовитель и его товарный знак, название лекарственного средства на латинском и русском языках, массу при влажности 12 %, назначение, способ употребления, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, штрих-код, срок годности, условия отпуска «Безрецептурный», соответствие продукции требованиям ВДУ ГН 2.6.005-93 по содержанию радионуклидов «Продукция прошла радиационный контроль СанПиН 2.3.2.560-96».

Транспортирование. В соответствии с ГОСТ 17768-90 и ГОСТ 6077-80.

Хранение. В соответствии с ГОСТ 6077-80 и ГФ XI, вып. 1, с. 296.

Срок годности. 4 года.

Фармакологическая группа. Слабительное средство.

Примечание. Реактивы и методики определения числовых показателей, приведенные в настоящей фармакопейной статье, описаны в соответствующих разделах Государственной фармакопеи СССР X и XI издания, вып. 1, 2.

Ректор ГБОУ ВПО СамГМУ
Минздрава России,
Академик РАН, лауреат Государственной
премии РФ и дважды лауреат премии
Правительства РФ,
заслуженный деятель науки РФ,
профессор Г.П. Котельников
«15» 05 2015 г.

Зав. кафедрой фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии
ГБОУ ВПО СамГМУ
Минздрава России,
профессор В.А. Куркин
«15» 05 2015 г.

Доцент кафедры фармации
ГБОУ ВПО ОрГМА
Минздрава России А.А. Шмыгарева
«16» 05 2015 г.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Крушины ольховидной кора	**Проект ФС**
Frangulae alni cortex	**Взамен ФС.2.5.0021.15**

Собранная весной до начала цветения кора стволов и ветвей дикорастущего кустарника или небольшого деревца крушины ольховидной (син.: крушина ломкая) – *Frangula alnus Mill.* (syn.: *Rhamnus frangula* L.), сем. крушиновых – *Rhamnaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Трубчатые или желобоватые куски коры различной длины, толщиной 0,5 – 2 мм. Наружная поверхность коры более или менее гладкая, темно-коричневая, серо-коричневая, темно-серая или серая, часто с беловатыми поперечно-вытянутыми чечевичками или серыми пятнами, при легком соскабливании наружной части пробки обнаруживается красный слой. Внутренняя поверхность гладкая, желтовато-оранжевого или красновато-коричневого цвета. При рассмотрении под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) излом светло-желтый, равномерно мелкощетинистый. Запах слабый. Вкус водного извлечения горьковатый.

Измельченное сырье. Кусочки коры различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 7 мм. Цвет коры с наружной стороны темно-коричневый, серо-коричневый, темно-серый или серый, с внутренней - желтовато-оранжевый или красновато-коричневый. Запах слабый. Вкус водного извлечения горьковатый.

Порошок. При рассмотрении порошка под лупой (10×) или

стереомикроскопом (16×) видна смесь частиц коры желтовато-коричневого цвета с коричневыми, темно-коричневыми, серо-коричневыми, темно-серыми, серыми вкраплениями, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Запах слабый. Вкус водного извлечения горьковатый.

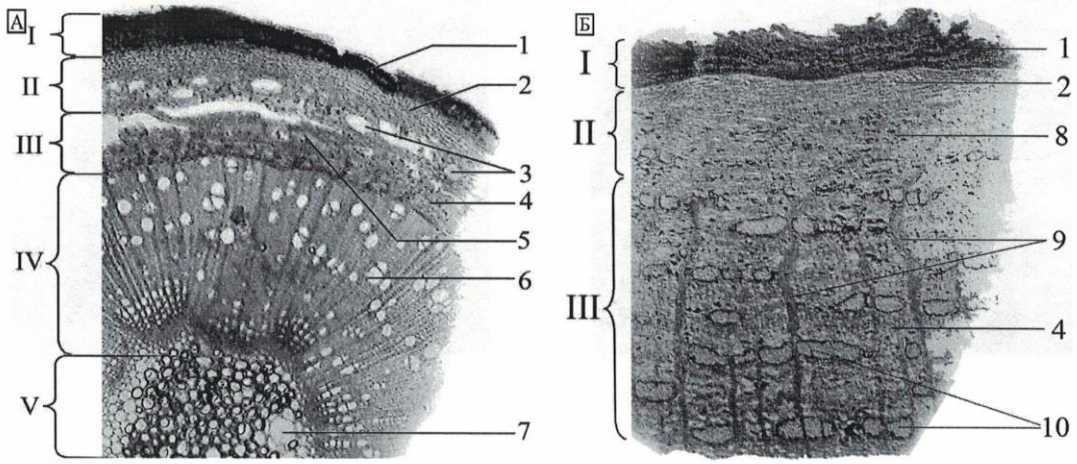
Микроскопические признаки. *Цельное сырье.* Покровные ткани представлены пробкой, первичная кора - колленхимой разной степени выраженности и локализации, а также паренхимой. Центральный цилиндр составляют ткани вторичной коры, содержащей элементы твердого и мягкого луба разной степени развития, древесина и паренхима сердцевины. Пробка темно-коричневого цвета сложена из 15-20 рядов (рисунок 1А). Ткани первичной коры представлены несколькими слоями клеток колленхимы, у крушины она хорошо диагностируется, содержит слизесодержащие вместилища, расположенные в кругу побега (рисунок 1А). Вторичная кора начинается с первичных механических не одревесневших волокон склеренхимы характерной, округлой, слегка смятой формы, образующих круг разрываемый клетками паренхимы (рисунок 1А). Вторичная кора молодых побегов уже содержит одревесневшие механические волокна (твердый луб) камбиального происхождения. Вторичная кора и древесина пронизана в радиальном направлении узкими сердцевинными лучами (рисунок 1А). В крушине сосуды расположены в радиальных группах (от 1 до 3-х) достаточно равномерно в течение годичного кольца (рис. 1А).

Для уточнения диагностических признаков гистологическому анализу подверглись образцы коры, заготовленные с веток 7–10 лет. На поперечном срезе коры крушины ломкой виден слой пробки, состоящей из 15-20 слоев клеток (рис. 1Б). Внутреннее содержимое клеток пробки темно-красного цвета. Ниже перидермы расположены характерно-утолщенные клетки колленхимы уголково-пластинчатого типа. Колленхима первичной коры, представленная слоями клеток (3-5 рядов), чередуется с паренхимными клетками с тонкостенными, равномерно утолщенными оболочками (рис. 1Б).

Основная паренхима наружной, первичной коры представлена овальными клетками, как правило, изодиаметрической формы. В ней изредка встречаются слизесодержащие вместилища, которые граничат с группами первичных механических волокон неодревесневшей склеренхимы, расположенной над лубом. Механические волокна первичной коры немногочисленны (рис. 1В). Во вторичной коре (лубе) видны узкие одно-, двухрядные, прямые или изогнутые по форме сердцевидные лучи паренхимы. В клетках коры крушины ломкой в большом количестве встречаются друзы оксалата кальция, изредка призматические монокристаллы ромбической формы.

Измельченное сырье. При рассмотрении давленного препарата должны быть видны фрагменты темно-красной пробковой ткани, группы желтоватых одревесневших лубяных волокон с кристаллоносной обкладкой, друзы, одиночные кристаллы оксалата кальция.

Порошок. При рассмотрении микропрепарата должны быть видны фрагменты темно-красной пробковой ткани; группы желтоватых одревесневших лубяных волокон с толстыми стенками, окруженные кристаллоносной обкладкой; сердцевинные лучи; друзы и одиночные кристаллы оксалата кальция (рис. 2).



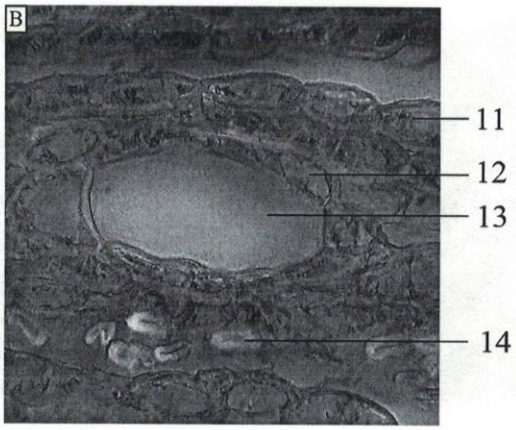
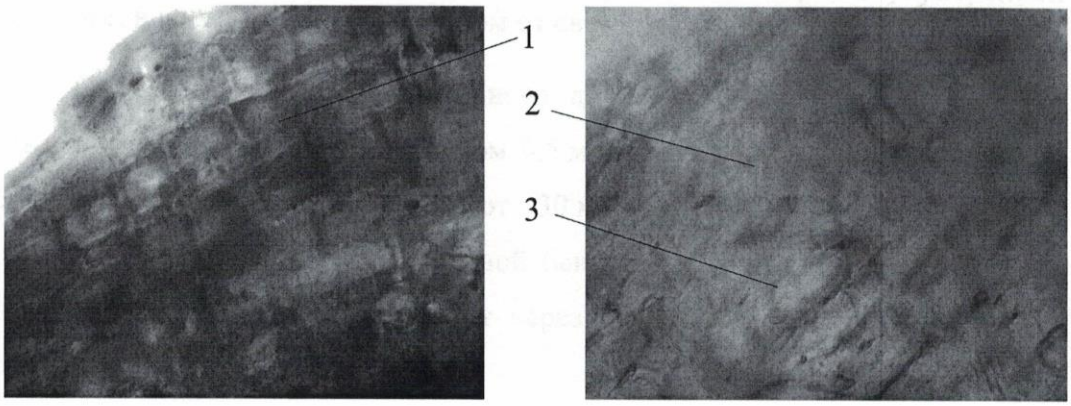


Рисунок 1 – Крушины ольховидной кора.
А – Поперечный срез двухлетнего побега крушины ломкой (х 40), Б – Поперечный срез коры крушины ломкой (х40), В - Схизогенное вместилище в первичной коре стебля крушины ломкой (окраска раствором сернокислого анилина) (х400).
I - покровные ткани; II - ткани первичной коры; III - ткани вторичной коры (луб); IV – древесина; V – сердцевина;
1 - пробка; 2 - колленхима; 3 - слизесодержащие вместилища в паренхиме первичной коры; 4 - мягкий луб; 5 - первичные волокнистые пучки; 6 - сосуды древесины;7 - слизесодержащее вместилище в паренхиме сердцевины; 8 - клетки паренхимы с друзами; 9 - сердцевинные лучи; 10 - группы лубяных волокон (твердый луб); 11- клетки паренхимы; 12 - выстилающие клетки вместилища; 13 – полость; 14 - первичные механические волокна.



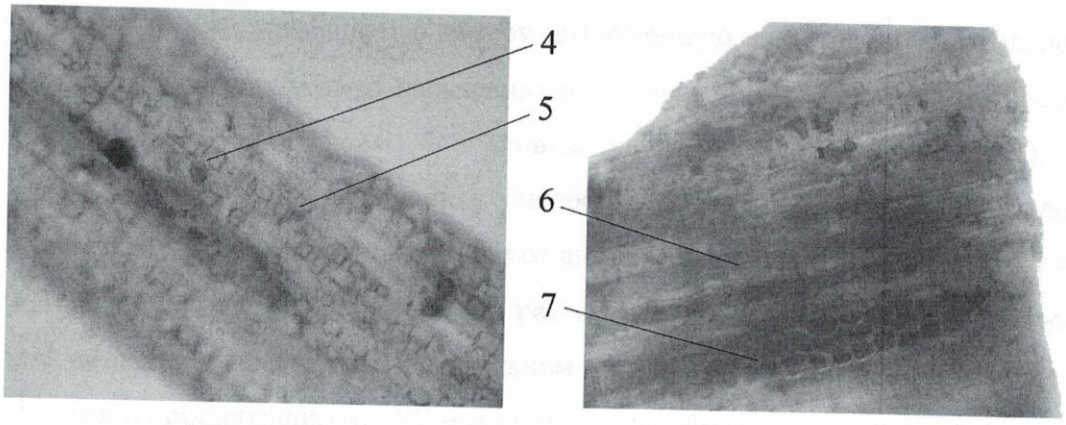


Рисунок 2 – Порошок коры крушины ольховидной (х 40).

1 – пробка; 2 – паренхима первичной коры; 3 – слизесодержащее вместилище; 4 – друза; 5 – сердцевинный луч; 6 – лубяные волокна; 7 – ткани вторичной коры.

Определение основных групп биологически активных веществ

1. ***Тонкослойная хроматография***

Приготовление растворов.

Раствор для детектирования. 0,01 г диазобензолсульфокислоты (ГФ X, стр. 876) растворяют в 10 мл 10 % раствора натрия карбоната. Раствор используют свежеприготовленным.

Раствор стандартного образца (СО) франгулина А. Около 0,02 г СО франгулина А растворяют в 30 мл спирта 70 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 1 мес. при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

Около 1 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл спирта 70 % и нагревают с обратным холодильником на водяной бане до кипения. После охлаждения полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 5 мкл испытуемого раствора и рядом 10 мкл раствора СО франгулина А.

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 60 мин смесью растворителей хлороформ – этиловый спирт 95% – вода (26:16:3), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают раствором для детектирования, сушат в сушильном шкафу при 100 – 105 °С в течение 3 – 5 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм и 365 нм.

На хроматограмме раствора СО франгулина А должна обнаруживаться зона адсорбции с желто-оранжевой флуоресценцией в УФ свете при длине волны 254 нм и 365 нм (R_f около 0,7); допускается наличие других пятен.

Пластинку опрыскивают щелочным раствором диазобензолсульфокислоты и помещают в сушильный шкаф на 2 мин. При 100-105°С. При этом на уровне пятна стандартного образца франгулина А обнаруживается доминирующее пятно красного цвета с величиной R_f около 0,7 (франгулин А); допускается наличие других пятен.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 15 %.

Зола общая. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 5 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 0,6 %.

Измельченность сырья. *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм – не более 5 %. *Измельченное сырье* – частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, – не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, – не более 5 %. *Порошок* – частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, – не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с

отверстиями размером 0,18 мм, – не более 5 %.

Посторонние примеси

Участки коры, покрытые кустистыми лишайниками. *Цельное сырье* – не более 1 %.

Участки коры с остатками древесины. *Цельное сырье* – не более 1 %.

Куски коры толще 2 мм. *Цельное сырье* – не более 3 %.

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

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

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

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

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

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

Количественное определение. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок:* сумма антрагликозидов в пересчете на франгулин А – не менее 4,5 %.

Сумма антрагликозидов в пересчете на франгулин А

Приготовление растворов.

Стандартного образца франгулина А. Около 0,02 г (точная навеска) франгулина А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем

раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А франгулина А). 1 мл раствора А франгулина А помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 40% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до ±0,01. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса) и охлаждают в течение 30 мин. Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор А). Испытуемый раствор А помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 524 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на франгулин А и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * m_0 * 50 * 1 * 50 * 100 * 100}{D_0 * m * 50 * 1 * 25 * (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_o – оптическая плотность раствора СО франгулин А;

m – масса сырья, г;

m_o – масса СО франгулина А, г;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

Упрощенная формула расчета как альтернатива:

$$X = \frac{D \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot 180 \cdot (100 - W)}$$

180 – это удельный показатель поглощения СО франгулина А.

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».

Ректор ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, академик РАН,
лауреат Государственной премии РФ
и дважды лауреат премии Правительства РФ,
заслуженный деятель науки РФ, профессор Г.П. Котельников
«19» 04 2017 г.

Зав. кафедрой фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,
профессор В.А. Куркин
«19» 04 2017 г.

Доцент кафедры управления и экономики
фармации, фармацевтической технологии
и фармакогнозии ФГБОУ ВО ОрГМУ
Минздрава России А.А. Шмыгарева
«19» 04 2017 г.

«Утверждаю»

И.о. ректора ФГБОУ ВО ОрГМУ
Минздрава России, профессор
_____ И.В. МИРОШНИЧЕНКО
«15» декабря 2016 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Шмыгаревой Анны Анатольевны «Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и лекарственных препаратов, фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре управление и экономика фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры управление и экономика фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии: зав. кафедрой, к. м. н., доцента А.Н. Санькова, к. б. н. О.А. Дорохиной, к. б. н. А.А. Кочуковой подтверждает использование материалов диссертационного исследования Шмыгаревой А.А., посвященного фармакогностическому исследованию и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных препаратов, фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и интернами, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты способствуют разработке объективных методик диагностики и определения качества сырья фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, и препаратов на их основе.

Члены комиссии:
Зав. кафедрой управление и экономика фармации,
фармацевтической технологии и фармакогнозии,
к. м. н., доцент А.Н. САНЬКОВ

Старший преподаватель кафедры управление и экономика фармации,
фармацевтической технологии и фармакогнозии,
к. б .н. О.А. ДОРОХИНА

Старший преподаватель кафедры управление и экономика фармации,
фармацевтической технологии и фармакогнозии,
к. б .н. А.А. КОЧУКОВА

Личную подпись А.Н. Санькова
О.А. Дорохиной
заверяю А.А. Кочуковой
Начальник отдела кадров Герасимова

«Утверждаю»

Ректор ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава
России, академик РАН,
лауреат Государственной премии РФ,
дважды лауреат премии Правительства РФ,
заслуженный деятель науки РФ,
профессор_____ **Г.П. КОТЕЛЬНИКОВ**
«15» _____декабря_____ 2016 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Шмыгаревой Анны Анатольевны «Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии: зав. кафедрой, д. фарм. н., профессора В.А. Куркина, д. фарм. н., профессора Е.В. Авдеевой, доцента, д. фарм. н. О.Е. Правдивцевой подтверждает использование материалов диссертационного исследования Шмыгаревой А.А., посвященного фармакогностическому исследованию и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и интернами, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты способствуют разработке объективных методик диагностики и определения качества сырья фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, и препаратов на их основе.

Члены комиссии:
Зав. кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,
д. фарм. н., профессор В.А. КУРКИН

Профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,
д. фарм .н., профессор Е.В. АВДЕЕВА

Доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,
д. фарм. н. О.Е. ПРАВДИВЦЕВА

443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

«Утверждаю»

Ректор ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава
России, академик РАН,
лауреат Государственной премии РФ,
дважды лауреат премии Правительства РФ,
заслуженный деятель науки РФ,
профессор _____ **Г.П. КОТЕЛЬНИКОВ**
«__» _____декабря_____ 2016 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Шмыгаревой Анны Анатольевны «Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре фармацевтической технологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармацевтической технологии: зав. кафедрой фармацевтической технологии, д. фарм. н., профессора С.В. Первушкина, доцента, к. фарм. н. Л.Д. Климовой, старшего преподавателя, к. фарм. н. О.В. Бер подтверждает использование материалов диссертационного исследования Шмыгаревой А.А., посвященного изучению химического состава и обоснованию использования в медицине лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и интернами, а также в научно-исследовательской работе в области технологических исследований по производству лекарственных препаратов на основе антрагликозидов.

Используемые при этом результаты изучения химического состава, а также разработанные подходы к стандартизации сырья и лекарственных препаратов являются методической и методологической основой для научного обоснования ресурсосберегающих технологий.

Члены комиссии:
Зав. кафедрой фармацевтической технологии,
д. фарм. н., профессор С.В. ПЕРВУШКИН

Доцент кафедры фармацевтической технологии,
к. фарм .н. Л.Д. КЛИМОВА

Старший преподаватель кафедры фармацевтической технологии,
к. фарм. н. О.В. БЕР

443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

«Утверждаю»

Ректор ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава
России, академик РАН,
лауреат Государственной премии РФ,
дважды лауреат премии Правительства РФ,
заслуженный деятель науки РФ,
профессор_____ **Г.П. КОТЕЛЬНИКОВ**
«_15_» ____декабря_____ 2016 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Шмыгаревой Анны Анатольевны «Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры химии фармацевтического факультета: зав. кафедрой химии фармацевтического факультета, д.б.н., профессора И.Ф. Шаталаева, доцента, к.фарм.н. А.В. Воронина, доцента, к.х.н. С.Х. Шариповой подтверждает использование материалов диссертационного исследования Шмыгаревой А.А., посвященного изучению химического состава, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и интернами, а также в научно-исследовательской работе в области изучения лекарственного растительного сырья, содержащего антрагликозиды.

Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации лекарственных препаратов на основе крушины ломкой, жостера слабительного, сенны александрийской, марены красильной.

Члены комиссии:
Зав. кафедрой химии фармацевтического факультета,
д. б. н., профессор И.Ф. ШАТАЛАЕВ

Доцент кафедры химии фармацевтического факультета,
к. фарм .н. А.В. ВОРОНИН

Доцент кафедры химии фармацевтического факультета,
к. х. н. С.Х. ШАРИПОВА

443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

«Утверждаю»

Директор ГАУЗ «ОИМЦ»

_____ Е.С. Бурасова

«_15_» _____декабря_____ 2016 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Шмыгаревой Анны Анатольевны «Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) в ГАУЗ «Оренбургский информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения» (ГАУЗ «ОИМЦ»)

Комиссия в составе сотрудников ГАУЗ «Оренбургский информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения»: заведующий контрольно-аналитической испытательной лабораторией Морозова С.В., начальник отдела физико-химического анализа и испытаний лекарственных средств Перхова О.Д., провизор-аналитик Рабаева Ж.Б. подтверждает использование материалов диссертационного исследования Шмыгаревой А.А., посвященного фармакогностическому изучению сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды. Разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы предприятия. В основе разработанных методик лежат методологические подходы, предусматривающие использование ТСХ и ИК-, УФ-спектроскопии, ВЭЖХ. Методики определения подлинности сырья и препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, а также методики определения суммы антраценпроизводных воспроизводимы и удобны в работе.

Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Шмыгаревой А.А. будет способствовать повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды.

Члены комиссии:

Заведующий контрольно-аналитической испытательной лабораторией ГАУЗ «ОИМЦ» С.В. Морозова

Начальник отдела физико-химического анализа и испытаний лекарственных средств ГАУЗ «ОИМЦ» О.Д. Перхова

Провизор-аналитик ГАУЗ «ОИМЦ» Ж.Б. Рабаева

«Утверждаю»

Начальник центра ГБУЗ
«Центр контроля качества лекарственных
средств Самарской области»
_____ Е.А. КАЛАБУХОВА
«___» ___декабря_____ 2016 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Шмыгаревой Анны Анатольевны «Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) в ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»

Комиссия в составе сотрудников ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» заместителя начальника центра Демидовой Г.А., провизора-аналитика Власовой Г.И., провизора-аналитика Ибадовой М.А. подтверждает использование материалов диссертационного исследования Шмыгаревой А.А., посвященного фармакогностическому изучению сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды. Разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы предприятия. В основе разработанных методик лежат методологические подходы, предусматривающие использование ТСХ, ВЭЖХ, ИК-, УФ-спектроскопии, а также стандартных образцов франгулина А, сеннозида В, 8-О-глюкозида эмодина. Методики определения подлинности сырья и препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, а также методики определения суммы антраценпроизводных воспроизводимы и удобны в работе.

Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Шмыгаревой А.А. будет способствовать повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды.

Члены комиссии:

Зам. начальника центра ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» _____ Г.А. ДЕМИДОВА

Провизор-аналитик ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» _____ Г.И. ВЛАСОВА

Провизор-аналитик ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» _____ М.А. ИБАДОВА

443070, г. Самара, ул. Партизанская, д. 33

«Утверждаю»

Генеральный директор

ЗАО «Самаралектравы»

_____Н.Д. ЛУЖНОВ

«19» декабря 2016 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Шмыгаревой Анны Анатольевны «Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) в ЗАО «Самаралектравы»

Комиссия в составе сотрудников ЗАО «Самаралектравы» зав. производством ЗАО «Самаралектравы» А.Н. Загарянского, главного инженера А.В. Никитенкова подтверждает использование материалов диссертационного исследования Шмыгаревой А.А., посвященного фармакогностическому изучению сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды. Разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы предприятия. В основе разработанных методик лежат методологические подходы, предусматривающие использование ТСХ, ВЭЖХ, ИК-, УФ-спектроскопии, а также стандартных образцов франгулина А, сеннозида В, 8-О-глюкозида эмодина и других веществ. Методики определения подлинности сырья и препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды, а также методики определения суммы антраценпроизводных воспроизводимы и удобны в работе.

Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Шмыгаревой А.А. будет способствовать повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды.

.

Члены комиссии:

Заведующий производством ЗАО «Самаралектравы»

А.Н. ЗАГАРЯНСКИЙ

Главный инженер ЗАО «Самаралектравы»

А.В. НИКИТЕНКОВ

446554, Самарская обл., Сергиевский район, с. Антоновка, ул. Полевая, д. 19А