

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

*На правах рукописи*

ЕГОРОВ НИКИТА ПАВЛОВИЧ

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА ШАЛФЕЙ (*SALVIA L.*)**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:  
Рыжов Виталий Михайлович,  
кандидат фармацевтических наук,  
доцент

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>ГЛАВА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛИ РОДА SALVIA L. (обзор литературы)</b> .....	16
<b>1.1. Историческая справка о роде <i>Salvia</i> L.</b> .....	16
<b>1.2. Род <i>Salvia</i> L.: таксономия</b> .....	17
<b>1.3. Ботаническое описание некоторых видов рода <i>Salvia</i> L.</b> .....	19
<b>1.4. Ареал произрастания и культивирования некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L.</b> .....	23
<b>1.5. Современные данные о химическом составе некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L.</b> .....	24
<b>1.6. Применение в народной и научной медицине некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L.</b> .....	39
<b>1.7. Применение некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. в других областях народного хозяйства</b> .....	42
<b>1.8. Анализ отечественной и зарубежной нормативной документации на листья <i>Salvia officinalis</i> L.</b> .....	42
<b>Выводы к главе 1</b> .....	49
<b>ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	50
<b>2.1. Объекты исследования</b> .....	50
<b>2.2. Методы морфолого-анатомического анализа</b> .....	53
<b>2.3. Методы титриметрического анализа</b> .....	54
<b>2.4. Хроматографические методы анализа</b> .....	54
<b>2.4.1. Тонкослойная хроматография</b> .....	54
<b>2.4.2. Жидкостная адсорбционная хроматография (колоночная хроматография)</b> .....	55
<b>2.4.3. Высокоэффективная жидкостная хроматография</b> .....	55
<b>2.4.4. Газовая хромато-масс-спектрометрия</b> .....	57
<b>2.5. Методы спектрального анализа</b> .....	58
<b>2.5.1. Методы спектрофотометрического анализа</b> .....	58
<b>2.5.2. ЯМР-спектроскопия</b> .....	62
<b>2.5.3. Масс-спектрометрия</b> .....	62
<b>2.5.4. ИК-спектроскопия</b> .....	62
<b>2.6. Частные методы количественного определения группы БАС</b> .....	62
<b>2.7. Технологические методы</b> .....	63
<b>2.8. Микробиологические методы</b> .....	63

2.9. Статистические методы .....	64
<b>ГЛАВА 3. СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>SALVIA</i> L. .</b>	<b>65</b>
3.1. Сравнительная анатомия петиолярных признаков некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. ....	65
3.2. Сравнительное морфолого-анатомическое исследование стеблевой части побега некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. ....	69
3.3. Морфолого-анатомический анализ порошков листьев и стеблей <i>Salvia officinalis</i> L. ....	73
Выводы к главе 3 .....	84
<b>ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>SALVIA</i> L. ....</b>	<b>86</b>
4.1. Результаты анализа содержания дубильных веществ в некоторых представителях рода <i>Salvia</i> L. ....	86
4.2. Результаты сравнительного хроматографического анализа некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. ....	87
4.3. Результаты сравнительного спектрофотометрического анализа некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. ....	94
4.3.1. Результаты сравнительного спектрофотометрического анализа флавоноидов в листьях и стеблях некоторых представителей рода <i>Salvia L.</i> ....	94
4.3.2. Результаты сравнительного спектрофотометрического анализа тритерпеноидов в листьях и стеблях некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. ....	101
4.3.3. Результаты сравнительного спектрофотометрического анализа дистерпенов в листьях и стеблях некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. .....	104
4.4. Результаты сравнительного ВЭЖХ-анализа некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. ....	108
4.4.1. Результаты сравнительного ВЭЖХ-анализа фенольных компонентов некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. ....	109
4.4.2. Результаты сравнительного ВЭЖХ-анализа карнозоловой кислоты некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. ....	113
4.5. Определение содержания эфирного масла в некоторых представителях рода <i>Salvia</i> L. ....	115
4.6. Сравнительное исследование компонентного состава эфирных масел листьев некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. ....	116
4.7. Препаративное выделение и идентификация веществ из <i>Salvia nemorosa L.</i> и <i>Salvia verticillata</i> L. ....	119

Выводы к главе 4.....	126
<b>ГЛАВА 5. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО И РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО .....</b>	<b>128</b>
<b>5.1. Совершенствование стандартизации листьев шалфея лекарственного .....</b>	<b>128</b>
<b>5.2. Разработка количественных методов анализа для листьев шалфея лекарственного .....</b>	<b>130</b>
<b>5.3 Разработка методик стандартизации препаратов на основе листьев шалфея лекарственного .....</b>	<b>143</b>
Выводы к главе 5.....	151
<b>ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>SALVIA</i> L. ....</b>	<b>152</b>
<b>6.1. Результаты сравнительного изучения противогрибковой активности лабораторных образцов экстракционных препаратов некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. ....</b>	<b>152</b>
<b>6.2. Результаты сравнительного изучения антибактериальной активности лабораторных образцов экстракционных препаратов некоторых представителей рода <i>Salvia</i> L. ....</b>	<b>158</b>
<b>6.3. Результаты изучения противогрибковой активности извлечений из листьев шалфея лекарственного.....</b>	<b>159</b>
<b>6.4. Результаты изучения противогрибковой активности карнозоловой кислоты .....</b>	<b>161</b>
Выводы к главе 6.....	163
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>164</b>
Список сокращений, использованных в диссертации: .....	167
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>168</b>
Приложение 1. Акты о внедрении результатов диссертационного исследования .....	193
Приложение 2. Патенты на изобретение .....	199
Приложение 3. Сертификат качества СО карнозоловой кислоты.....	202
Приложение 4. <sup>1</sup> H-ЯМР-, <sup>13</sup> C-ЯМР- и масс-спектры индивидуального соединения, выделенного из листьев шалфея дубравного .....	203
Приложение 5. <sup>1</sup> H-ЯМР-, <sup>13</sup> C-ЯМР- и масс-спектры индивидуального соединения, выделенного из листьев шалфея мутовчатого.....	205
Приложение 6. Проекты ФС .....	207

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Известно, что одним из важнейших источников биологически активных соединений (БАС) является лекарственное растительное сырье (ЛРС), широко применяемое для изготовления лекарственных растительных препаратов (ЛРП) (Abomuti, M.A. 2021).

На фоне всплеска вирусных заболеваний в современной медицине возникают прецеденты, когда вирусная инфекция запускает ещё более сложные патологические процессы, обусловленные присоединившимися бактериальными и грибковыми возбудителями, существенно усугубляющими течение основного заболевания. В связи с этим одной из актуальных задач мировой фармацевтической науки является поиск средств для профилактики и лечения, в частности, микозных осложнений после перенесённого COVID-19. Данная проблема обусловлена низкой эффективностью имеющихся противогрибковых препаратов, индифферентных к представителям родов *Mucor*, *Aspergillus* и *Scopulariopsis* и др. (Бурова, С.А. 2022; Колсанов, А.В. 2020; Полянин, Д.А. 2023; Честнова, Т.А. 2021; Chen, S.H. 2023).

При этом известно, что вещества природного происхождения, в частности, растительные полифенолы и терпеноиды, являются перспективными антибактериальными и противогрибковыми агентами. Интерес в данном аспекте биологического действия проявлен к таким растениям, как лаванда лекарственная, солодка голая, алтей лекарственный, монарда дудчатая, тополь черный, и другие виды (Урбачик, Е.А. 2024, Халиуллина, А.С. 2024; Arockianathan, P.M. 2019; Rashidi, A. 2011) К числу таковых относятся и представители рода Шалфей (*Salvia* L.). Наиболее ценным и широко использованным является шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.) (Зилфикаров, И.Н. 2008; Макарова А.С. 2015).

Несмотря на наличие фармакопейной статьи (ФС) на листья ш. лекарственного (ФС.2.5.0051 «*Salviae officinalis folia*») и высокую изученность его химического состава, сохраняется ряд нерешённых вопросов, снижающих уровень стандартизации данного ЛРС. К числу основных проблем относятся отсутствие в разделе «Микроскопические признаки» описания порошка листьев, применение

неселективного и низкоинформативного показателя «Экстрактивные вещества», не отражающего в полной мере БАС сырья, а также отсутствие использования стандартных образцов (СО) флавоноидов и терпеновых соединений, имеющих диагностическое значение в химической таксации растительного объекта. Кроме того, одной из проблем стандартизации шалфея лекарственного является значительное число близкородственных видов, имеющих схожий ареал обитания с фармакопейным видом. Близкое родство указанных таксонов обуславливает сходство их морфологических, гистологических и фитохимических характеристик. В структуре ФС не учитываются диагностические особенности примесных видов, что повышает риск попадания примеси нефармакопейных растений.

Из всех видов рода *Salvia* L. в научной медицине применяется только ш. лекарственный, культивируемый на юге России. Кроме того, большой интерес представляют виды рода *Salvia* L., произрастающие в среднем Поволжье: ш. мутовчатый, ш. кустарниковый, ш. поникающий и ш. дубравный. Они морфолого-анатомически и фитохимически схожи с фармакопейным видом рода *Salvia* L., что затрудняет его диагностику, особенно в случае измельченного и порошкованного сырья. Кроме того, данные виды рода *Salvia* L. могут являться перспективными растительными источниками БАС наряду с ш. лекарственным (Лужанин, В. Г. 2023)

Помимо описанных проблем стандартизации фармакопейного сырья имеются особенности развития рынка фитодобавок и парафармацевтических продуктов, которые зачастую получают не из стандартизированного сырья. В частности, для ш. лекарственного характерно присутствие на рынке экстрактов на основе травы данного растения. Однако в НД отсутствует описание диагностики стеблевой части шалфея, доминирующей в его фитомассе, а также не учитываются особенности химического состава стеблевой части относительно классического сырья – листьев ш. лекарственного.

**Степень разработанности темы.** Представители рода *Salvia* L. традиционно привлекают внимание как источники терпеноидных и фенольных соединений. В ряде диссертационных исследований проводилось изучение отдельных видов

данного рода. Так, в исследованиях Асановой Э.Б. (1997) и Шешеговой Е.В. (2004) изучался химический состав корней и надземной части *S. officinalis*, *S. dumetorum* и *S. tesquicola*, однако анализ не был комплексным и сравнительным. Работы Карасавиди А.О. (2006), Бесединой Н.А. (2007) и Зилфикарова И.Н. (2008) были посвящены разработке методов стандартизации *S. officinalis* (анализ измельченного сырья, эфирных масел, дитерпенов), но не включали сравнительного анализа с другими видами рода. В более поздних исследованиях (Гусева С.И., 2010; Чакчир О.Б., 2013; Щеглова Т.А., 2014; Макарова А.С., 2025) изучались препараты на основе шалфея, влияние внешних факторов на сырье или его отдельные фракции, однако фармакогностическое сравнение видов не проводилось. Таким образом, комплексное сравнительное изучение *S. officinalis* и распространённых нефармакопейных видов (*S. nemorosa*, *S. verticillata*, *S. dumetorum*, *S. nutans*) по морфолого-анатомическим признакам и спектру БАС, что определяет новизну настоящего исследования.

**Цель работы и основные задачи исследования.** Цель диссертационного исследования – сравнительное фармакогностическое изучение представителей рода Шалфей (*Salvia* L.) для совершенствования методов стандартизации ЛРС ш. лекарственного (*Salvia officinalis* L.), а также обоснование целесообразности использования в медицинской практике других видов рода *Salvia* L., произрастающих на территории Самарской области.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Проведение сравнительного морфолого-анатомического исследование 5 видов рода *Salvia* L., произрастающих на территории Самарской области – ш. лекарственный, ш. мутовчатый, ш. дубравный, ш. поникающий, ш. кустарниковый;
2. Проведение сравнительного исследования химического состава фенольных соединений в стеблях и листьях указанных видов рода *Salvia* L.;
3. Анализ эфирно-масличного состава листьев исследуемых видов рода *Salvia* L.;
4. Сравнительный анализ дитерпеновых кислот в листьях исследуемых видов рода *Salvia* L.

5. Изучение противогрибковой и антибактериальной активности извлечений из листьев изучаемых видов рода *Salvia* L.;
6. Усовершенствование разделов ФС на ЛРС «Шалфей лекарственного листа» и разработка проекта ФС «Шалфей лекарственного листьев настояка».

**Научная новизна.** В ходе диссертационного исследования впервые проведено углубленное сравнительное морфолого-анатомическое исследование стеблей и петиолярных признаков листьев пяти видов рода Шалфей (*Salvia* L.), произрастающих в Самарской области. При этом для ш. лекарственного в качестве диагностических признаков медиальной части среза черешка отмечены: размер поперечного сечения черешка – ширина 1,2 мм, высота 1,5 мм; округлая форма поперечного сечения с ребрами-ушками, выступающими сверху и имеющими характерные каплевидные очертания; особенности проводящей системы: наличие трех закрытых коллатеральных пучков, центрального крупного пучка, разделенного ближе к основанию черешка, и присутствие мелких вторичных пучков.

Анализ микроскопических признаков порошкованного сырья листьев, стеблей и травы ш. лекарственного выявил диагностические признаки, достоверно детектируемые в порошке с различной степенью измельчения (1 мм, 0,5 мм, 0,25 мм). Предложена методика микроскопического анализа порошка «Шалфей лекарственного листа», позволяющая выявлять наличие стеблевой части в сырье с допустимым числовым показателем: не более 13%.

При сравнительном тонкослойном хроматографическом (ТСХ) анализе пяти изучаемых видов рода *Salvia* L. выявлено наличие цинарозида,  $\beta$ -ситостерина, карнозоловой кислоты, розмариновой кислоты и олеаноловой кислоты для большинства видов, что подтверждает их роль в качестве хемоиндикаторов рода *Salvia* L. Наличие цинарозида является специфичным для листьев изученных видов рода *Salvia* L. Разработана методика ТСХ-анализа для качественного определения карнозоловой кислоты в настояке ш. лекарственного листьев.

В ходе сравнительного спектрофотометрического анализа 5 видов рода *Salvia* L. установлено, что наибольший выход флавоноидов наблюдается при извлечении

спиртом этиловым 40–70%. В стеблях их содержание меньше, чем в листьях. Наибольшее содержание суммы дитерпеновых кислот в пересчёте на карнозоловую кислоту выявлено в листьях ш. лекарственного и ш. поникающего. Наибольшее содержание суммы тритерпеновых соединений в пересчете на олеаноловую кислоту в листьях ш. кустарникового ( $19,18 \pm 0,03\%$ ), высокое – в стеблях у ш. мутовчатого ( $10,06\% \pm 0,05\%$ ); во всех видах, кроме ш. мутовчатого, в листьях содержание тритерпеноидов выше, чем в стеблях.

Проведено сравнительное изучение компонентного состава эфирных масел листьев исследуемых видов рода *Salvia* L., в результате установлено, что содержание эфирного масла в листьях ш. лекарственного (0,2 %) достоверно выше, чем в других исследуемых видах. Качественный анализ ГХ-МС позволил определить диагностически значимые вещества для определения подлинности ш. лекарственного: камфен (4,34%),  $\alpha$ -туйон (5,5%), камфора (13,18%). Кроме того, выявлены маркёрные монотерпены, присутствующие в минорных количествах в примесных видах рода *Salvia* L., но доминирующие в ш. лекарственном: 1,8-цинеол (20,78%),  $\alpha$ -терпинеол (4,57%).

Проведено сравнительное изучение фенольных и дитерпеновых соединений методом ВЭЖХ исследуемых видов рода *Salvia* L., в результате чего установлено высокое содержание розмариновой кислоты во всех видах, кроме ш. поникающего. Подтверждено наличие цинарозида во всех листьях изучаемых видов рода *Salvia* L., кроме ш. мутовчатого; рутина – в листьях ш. лекарственного, ш. поникающего и ш. кустарникового; карнозоловой кислоты – в листьях ш. мутовчатого и ш. лекарственного.

Проведено исследование противогрибковой активности водных и водно-спиртовых извлечений из листьев пяти представителей рода *Salvia* L. в отношении постковидных грибковых клинических штаммов, которое подтвердило противогрибковый эффект у ш. лекарственного и показало перспективность ш. мутовчатого и ш. дубравного на уровне фармакопейного вида. Разработана модификация методики профессора И.Н. Зилфикарова по определению флавоноидов для листьев ш. лекарственного. Разработаны оригинальные

количественные методики определения суммы тритерпеновых кислот в пересчете на олеаноловую кислоту и суммы дитерпенов в пересчете на карнозоловую кислоту в среде серной кислоты.

Научная новизна проведенного диссертационного исследования подтверждается патентами Российской Федерации на изобретение № 2835171 «Применение настойки шалфея в качестве противогрибкового средства в отношении *Mucor mucedo*», № 2835714 «Применение настойки шалфея в качестве противогрибкового средства в отношении *Scopulariopsis brevicaulis*» и № 2837771 «Применение настойки шалфея в качестве противогрибкового средства в отношении штаммов рода *Aspergillus*» (Приложение № 2).

**Теоретическая и практическая значимость.** Значимость диссертационного исследования заключается в расширении представлений о применении листьев ш. лекарственного в качестве противогрибкового средства при терапии микозных осложнений, вызванных клиническими грибковыми и бактериальными штаммами *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Mucor circinelloides*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, характерными для постковидного периода. В ходе исследования обоснован выбор спирта этилового 40% в качестве оптимального экстрагента для получения лабораторного образца экстракционного препарата «Шалфея лекарственного листьев настойка». На основании выполненного объёма исследований, направленных на установление параметров качества, разработан проект ФС «Шалфея лекарственного листьев настойка». Кроме того, предложены новые редакции разделов ФС.2.5.0051 «Шалфея лекарственного листа» – «Идентификация» и «Количественное определение».

**Внедрение результатов исследования.** Практическая значимость диссертационной работы подтверждается внедрением её итогов в научно-исследовательскую деятельность НОЦ «Фармация» и образовательные программы трёх кафедр Института фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Предложенные алгоритмы оценки качества листьев *Salvia officinalis* L. прошли успешную апробацию и интегрированы в текущую работу Средне-Волжского

филиала ФГБНУ «ВИЛАР» и ООО «НикВиФарм». Документальное подтверждение факта использования разработок (акты внедрения) содержится в Приложении № 1 к настоящему исследованию.

**Личный вклад автора.** Обсуждаемые результаты настоящей диссертационной работы, автором получены самостоятельно. Автор непосредственно участвовал в пробоподготовке и микротомировании образцов, а также в микроскопировании срезов. Автором лично проводились эксперименты по получению всех извлечений для фитохимического исследования. Также диссертантом проводились анализы методами ВЭЖХ, ТСХ, ГХ-МС, УФ-спектрофотометрия, количественное определение эфирного масла. В эксперименте по определению минимальных ингибирующих концентраций (МИК) автором изготавливались образцы для анализа в клинико-диагностической лаборатории Клиник ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Результаты всех анализов обрабатывались лично диссертантом.

**Связь темы исследований с планами научно-исследовательских работ.** Проведение диссертационного исследования осуществлялось в соответствии с научно-исследовательским планом работ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках тем НИР: «Химико-фармацевтические, биотехнологические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» (регистрационный номер: АААА-А19-1119051490148-7, дата регистрации: 14.05.2019 г.); «Химико-фармацевтические, фармакогностические, технологические, биотехнологические, фармакологические и организационно экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» (регистрационный номер: 125121714557-3, дата регистрации: 17.12.2025 г.).

**Методология и методы исследования.** Методологический подход основывается на комплексных сравнительных исследованиях 5 видов рода *Salvia*

L. Теоретической базой исследования послужила совокупность литературных источников, по фармакогностическому анализу стеблей и листьев некоторых представителей рода *Salvia* L.

В качестве объектов исследования выступали вегетативные органы (стебли и листья) пяти видов рода *Salvia* L.: ш. мутовчатого, ш. лекарственного, ш. дубравного, ш. кустарникового и ш. поникающего. Сбор растительного сырья осуществлялся в период с 2023 по 2025 годы во время фазы цветения. Шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.) был получен на базе Ботанического сада Самарского университета в городе Самаре. Образцы шалфея дубравного и поникающего собирались в окрестностях с. Кривая Лука, а шалфей кустарниковый и мутовчатый — в районе с. Камышла Самарской области.

Морфолого-анатомическое исследование стеблей и листьев указанных представителей рода *Salvia* L. проводили с применением метода микроскопии в проходящем и отраженном свете. Исследование химического состава осуществляли методами ТСХ, ВЭЖХ, ГХ-МС и спектрофотометрии. Эфирные масла из листьев исследуемых видов рода *Salvia* L. получали методом № 2 ГФ РФ XV издания. Противогрибковую и антибактериальную активности различных лабораторных образцов экстракционных препаратов из сырья изученных видов рода *Salvia* L. определяли методом многосерийного разведения. Статистическую обработку экспериментов проводили в соответствии с ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» ГФ РФ XV издания.

#### **Положения, выдвигаемые на защиту:**

1. Результаты сравнительного морфолого-анатомического углубленного изучения листьев– петиолярных признаков и стеблей пяти видов рода *Salvia* L., произрастающих на территории Самарской области.

2. Результаты сравнительного качественного анализа фенольных и терпеноидных соединений изучаемых видов рода *Salvia* L. с применением методов ТСХ-анализа.

3. Результаты сравнительного количественного анализа фенольных и терпеноидных соединений изучаемых видов рода *Salvia* L. с применением спектрофотометрического метода.

4. Результаты сравнительного качественного и количественного анализов фенольных соединений (цинарозид, рутин и розмариновая кислота) изучаемых видов рода *Salvia* L. с применением метода ВЭЖХ-анализа.

5. Результаты сравнительного качественного анализа карнозоловой кислоты в листьях ш. мутовчатого, ш. дубравного и ш. лекарственного с применением метода ВЭЖХ.

6. Результаты сравнительного количественного и качественного анализов летучих компонентов эфирного масла изучаемых видов рода *Salvia* L. с применением ГХ-МС-анализа.

7. Данные изучения антибактериальной и противогрибковой активности.

8. Материалы по разработке патентной и нормативной документации.

**Степень достоверности.** Достоверность результатов диссертационных исследований, достигнутых в ходе проведения экспериментов с применением микроскопии, хроматографии, спектрального анализа, а также микробиологических методов анализа подтверждена статистической обработкой.

**Соответствие диссертационной работы паспорту научной специальности.** Представленные в тексте диссертационной работы основные положения полностью соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) по пунктам 2, 3, 5 и 6.

**Публикации.** Основные результаты диссертационного исследования представлены в 14 печатных публикациях, в том числе 2 статьи в журналах, включенных в перечень рекомендуемых ВАК научных изданий. Получено 3 патента РФ на изобретение.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на научных конференциях различного уровня: XVII Всероссийская (91-ая Итоговая) студенческая научная конференция с

международным участием «Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты» (Самара, 2023 г.), научно-методическая конференция «V Гаммермановские чтения» (Москва, 2023 г.), Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Аспирантские чтения» (Самара, 2023 и 2025 гг.), I Самарская областная студенческая конференция (Самара, 2024 г.), международная научная конференция «От растения до лекарственного препарата» (Москва, 2024 г.), научно-практическая онлайн-конференция с международным участием «Современные проблемы фармации» (Самара, 2023, 2024 и 2025 гг.), Всероссийская студенческая научно-практическая конференция «Студенческая наука: взгляд молодых» (Майкоп, 2025 г.).

**Объем и структура работы.** Диссертационная работа изложена на 231 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 42 рисунками и 38 таблицами. Содержание работы представлено введением, обзором научной литературы, главой с характеристикой объектов и методов исследования и 4 главами экспериментальных исследований, а также выводами и заключением. Список литературы содержит 180 источников, среди которых 63 на иностранном языке. Завершается работа 6 приложениями.

**Глава 1** представлена критическим анализом современной научной литературы, включающим труды российских и зарубежных авторов, посвященные изучению отдельных представителей рода *Salvia* L. В главе систематизированы сведения о филогенезе, систематическом положении, естественных ареалах и опыте культивирования пяти видов шалфея. Особое внимание уделено обобщению данных о фитохимическом профиле и фармакологическом потенциале растений, а также рассмотрены актуальные подходы к нормированию качества сырья в соответствии с требованиями отечественных и международных регуляторных документов.

**Глава 2** включает описание объектов и методов исследования, использованных в ходе работы.

**Глава 3** содержит результаты сравнительного морфолого-анатомического исследования листьев и стеблей пяти видов рода *Salvia* L., произрастающих на территории Самарской области.

**Глава 4** представляет данные и обсуждение сравнительного фитохимического исследования стеблей и листьев пяти представителей рода *Salvia* L.

**Глава 5** содержит информацию о совершенствовании разделов стандартизации ФС.2.5.0051 «Шалфея лекарственного листа», а также разработки проекта ФС «Шалфея лекарственного листьев настояка».

**Глава 6** посвящена исследованию противогрибкового и антибактериального действиям извлечений из листьев изученных представителей рода *Salvia* L.

Диссертация завершается заключением, выводами, списком литературы и приложениями.

## ГЛАВА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛИ РОДА *SALVIA* L. (обзор литературы)

### 1.1. Историческая справка о роде *Salvia* L.

С древних времён на Руси шалфей широко использовался в быту, что за долгий период породило множество народных названий растения: «*Буквица синяя, шалфей лекарственный, королевский шалфей, шалфий, шальвия, шавлий, салфей, салатный лист, салвей, благородный шалфей, бабка и подсвитух*» [6, 91, 92, 109]. Подобное разнообразие синонимов характерно и для других славянских языков: в украинском – шавлія лікарська, шалфій и шалвія; в белорусском – шалфей аптэчны, лекавы, мальва и шалвея [6, 91, 92, 102, 109].

Современное название «шалфей» происходит от старорусских форм «салвей», «салфей», известных с XVII века [92, 109]. Это слово было заимствованно у западноевропейских славян от польского слова «*szalwia*», а то, в свое время, от немецкого «*salveie*» [36, 92, 102, 109]. Немецкая форма была заимствована от итальянского «*salvia*», а та – от латинского «*salvus*» [36, 92, 102, 109].

Широкое бытовое применение шалфея отмечается и в английской культуре, о чём свидетельствует народное поверье: «*как и петрушку, шалфей лучше всего удаётся выращивать женщинам, которые главенствуют в семье*» [92, 109]. Современное английское название шалфея «*sage*» заимствованно от старофранцузского «*saugé*» (XIII век), в свою очередь оно также восходит от латинского «*salvia*» [92, 109].

Латинские корни родового названия «*salvia*» (целебная сила) имеют несколько версий происхождения [6, 10, 13, 50, 51, 55, 76, 92, 104, 109, 117, 119, 178]. Согласно первой версии, оно происходит от слова «*salvus*» – «здоровый», что свидетельствуется старинной пословицей Салернской медицинской школы: «*Cur moriatur homo, cui Salvia crescit in horto?*» («Как может умереть человек, у которого растёт в саду шалфей?») [119]. Вторая версия возводит название к глаголу «*salvare*» – «спасать», «исцелять» или «сохранять здоровье». Все версии происхождения названия шалфея связаны с тем, что издавна он применялся в качестве лечебного

растения, что подтверждается мифами о шалфее [6, 10, 13, 50, 51, 55, 76, 92, 104, 109, 117, 119, 178].

На протяжении долгого времени, вплоть до XII века, галльские друиды верили, что шалфей способен воскрешать мёртвых [10, 50, 119].

В Древнем Риме и Египте сок шалфея рекомендовали женщинам, желающим стать матерями, для укрепления здоровья [6, 10, 50, 76, 119]. Традиция приписывала растению свойство оживлять и хранить зачатую жизнь, считая его маяком для душ, возвращающихся из иного мира. Сакральная роль шалфея как защитника жизни от гибели нашла отражение в известном афоризме, согласно которому наличие этого растения в саду ограничивает власть смерти [6, 10, 50, 76, 119]. Кроме того, шалфей был ключевым компонентом бальзамирования, и считалось, что ни один фараон не мог отправиться в загробный мир без его аромата [119]. В тибетском трактате шалфей использовался при ощущении жара в сосудах и расстройств пищеварения [8, 58].

Видовой эпитет шалфея «*officinalis*» (аптечный, лекарственный) указывает на прямое применение в медицине в качестве лекарственного растения [55, 117].

## 1.2. Род *Salvia* L.: таксономия

Представители рода *Salvia* L. (Шалфей) образуют одну из наиболее масштабных и полиморфных групп в структуре семейства Яснотковые (*Lamiaceae*). Данный таксон включает в себя порядка 1000 видов, характеризующихся глобальным ареалом: эти растения встречаются во всех частях света, за исключением антарктического региона. [19, 47, 62, 63, 64, 104, 117, 137, 141, 147].

Мировая флора характеризуется значительным видовым разнообразием, поэтому в связи с особенностями территориального произрастания в РФ нами исследовались таксоны рода Шалфей европейской части России, которые также наиболее часто встречаются в Среднем Поволжье, кроме культивируемого ш. лекарственного, к таким видам относятся шалфей кустарниковый (*Salvia dumetorum* Andr. ex Besser), шалфей степной (*Salvia stepposa* Des.-Shost.), шалфей

поникающий (*Salvia nutans* L.), шалфей дубравный (*Salvia nemorosa* L.), шалфей сухостепной (*Salvia tesquicola* Klokov et Pobed), шалфей лесной (*S. sylvestris* L.), шалфей мутовчатый (*Salvia verticillata* L.), шалфей поникающий (*Salvia hastata* Etl.), шалфей остролистный (*Salvia acutifolia* Lam.), шалфей повислый (*Salvia pendula* Dum.Cours), шалфей буквицелистный (*Salvia betonicifolia* Etl), шалфей кременецкий (*Salvia cremenecensis* Besser) [11, 57, 62, 98, 155]. Характерным регионом для указанных видов является Самарская область [11, 57, 62, 98, 155].

В связи с тем, что применение наименований старых таксонов в научной и научно-популярной литературе затрудняет интерпретацию и сопоставление научных данных, требуется систематизация синонимичных или устаревших таксономических наименований [47, 62, 63, 64, 104, 117, 125, 137, 147, 155, 180].

В советское время шалфей лесной (*Salvia sylvestris* L.) и шалфей дубравный (*Salvia nemorosa* L.) объединили в один вид – шалфей дубравный (*Salvia nemorosa* L.); по современной классификации шалфей дубравный (*Salvia nemorosa* L.) и шалфей сухостепной имеют общий генотип, поэтому их объединяют в общий таксон «шалфей дубравный» [125, 147, 155, 180].

Шалфей кустарниковый (*Salvia dumetorum* Andr. ex Besser) включает в себя шалфей степной (*Salvia stepposa* Des.-Shost.) [47, 62, 63, 64, 104, 117, 137, 147, 155]. В различных определителях флоры СССР эти два вида были самостоятельными [11, 32]. Однако впоследствии шалфей степной стал старым синонимом ш. кустарникового [47, 62, 63, 125, 137, 147, 155, 180].

Ранее шалфей поникающий (*S. nutans* L.) и шалфей буквицелистный (*Salvia betonicifolia* Etl) являлись разными видами [32]. Шалфей поникающий имеет другие синонимические названия: *Salvia hastata* Etl., *Salvia acutifolia* Lam., *Salvia pendula* Dum.Cours., *S. cremenecensis* Besser. [104, 125, 155, 180].

Шалфей мутовчатый и шалфей лекарственный сохранили самостоятельные таксоны [19, 47, 62, 63, 64, 104, 117, 125, 137, 147, 155, 180,].

В результате из общего описанного массива широко распространенных видов рода *Salvia* L. составилось 5 таксонов (табл. 1).

Таблица 1 – Синонимические и современные названия таксонов видов рода *Salvia* L., произрастающих в Среднем Поволжье России

Современное название таксона	Часто встречаемые научные синонимы современного названия таксона
Ш. дубравный ( <i>S. nemorosa</i> L.)	Ш. дубравный ( <i>S. nemorosa</i> L.)
	Ш. сухостепной ( <i>S. tesquicola</i> Klokov et Pobed)
	Ш. лесной ( <i>S. sylvestris</i> L.)
Ш. кустарниковый ( <i>S. dumetorum</i> Andrz. ex Besser)	Ш. кустарниковый ( <i>S. dumetorum</i> Andrz. ex Besser)
	Ш. степной ( <i>S. stepposa</i> Des.-Shost)
Ш. поникающий ( <i>S. nutans</i> L.)	Ш. поникающий ( <i>S. nutans</i> L.)
	Ш. остролистный ( <i>S. acutifolia</i> Lam.)
	Ш. повислый ( <i>S. pendula</i> Dum.Cours.)
	Ш. буквицелистный ( <i>S. betonicifolia</i> Etl.)
	Ш. поникающий ( <i>Salvia hastata</i> Etl.)
	Ш. кременецкий ( <i>S. cremenecensis</i> Besser.)
Ш. мутовчатый ( <i>S. verticillata</i> L.)	Ш. мутовчатый ( <i>S. verticillata</i> L.)
Ш. лекарственный ( <i>S. officinalis</i> L.)	Ш. лекарственный ( <i>S. officinalis</i> L.)

### 1.3. Ботаническое описание некоторых видов рода *Salvia* L.

Для рода *Salvia* L. присущи такие признаки, как чашечка колокольчатая или широко-колокольчатая у ш. лекарственного, кустарникового, дубравного, однако для мутовчатого чашечка колокольчато-трубчатая [19, 32, 64, 104], трубчатая [32, 64, 104], и для ш. поникающего – ширококолокольчатая [64], трубчато-колокольчатая [32, 64, 104]. Верхняя губа чашечки цельная или с 3 зубцами, нижняя губа 2-лопастная [32, 62, 64, 104]. Общий признак для рода *Salvia* L. – во время плодоношения чашечка остается на месте и верхняя губа немного увеличивается [19, 32, 62, 64, 104].

Согласно литературным данным: «У всех видов рода *Salvia* L. верхняя губа чашечки трехзубчатая» [32, 47, 62, 63, 64, 104].

Из литературных источников известно: «У ш. лекарственного верхняя губа чашечки с яйцевидными длинно-заостренными боковыми зубцами и вдвое более коротким, широко треугольным, очень коротко заостренным срединным зубцом,

также верхняя губа по длине равна нижней. Для ш. кустарникового верхняя губа чашечки полукруглая, широкой шлемовидной формы, с очень короткими сближенными вместе зубцами, средний зубец при этом короче боковых. Ш. дубравный имеет округлую верхнюю губу, с тремя сближенными зубчиками, где средний более короче боковых. Для ш. поникающего характерна округлая верхняя губа с очень короткими, тесно сближенными зубчиками» [32, 64, 104]. Ш. мутовчатый имеет короткие острые зубчики верхней губы 0.51 мм длиной, иногда средний короче боковых [32, 64, 104].

Степень рассеченности чашечки: у ш. лекарственного и ш. дубравного почти до половины рассечена на две губы [64, 104].

По длине чашечки у всех видов размеры различаются: так для ш. лекарственного длина варьируется от 9 до 11 мм [32, 64]; у ш. кустарникового – от 5 до 10 мм [32, 64]; у ш. дубравного от 5 до 15 мм [32, 64]; у ш. поникающего 4-13 мм [32, 64]; у ш. мутовчатого – чашечка равна плодоножке [64].

Окраска чашечки у ш. мутовчатого – фиолетовая, или пурпуровая, или лиловая [32, 64, 104], у ш. кустарникового – сине-фиолетовая, фиолетовая.

Опушенность чашечки тоже может различается, что видно из литературных данных: «У ш. лекарственного снаружи чашечка коротко курчаво опушенная, особенно по жилкам и её краям, между жилками с многочисленными сидячими железками; у ш. кустарникового чашечка опушенная простыми многоклеточными волосками и железками с длинной ножкой, внутри в верхней половине с короткими прижатыми волосками; ш. дубравный имеет ворсинчато-опушенную чашечку только по жилкам» [32, 64, 104].

Для представителей рода *Salvia* L., как правило, трубка венчика может быть с волосистым кольцом или без него [32, 62, 64, 104]. У ш. мутовчатого и ш. лекарственного трубка венчика только с волосистым кольцом [62, 64, 104] или без него [64]. У ш. кустарникового и ш. дубравного внутри трубки нет волосистого кольца, либо хорошо выраженная полоска чешуевидных волосков [32, 64, 104]. В трубке венчика у ш. поникающего редко встречаются чешуевидные волоски [32, 64, 104].

Венчик всегда разделен на две губы, верхняя из которых шлемовидная, сжатая с боков, нижняя губа 3-лопастная. Нижняя губа отличается преобладанием средней лопасти над боковыми (их примерное равенство встречается лишь в единичных случаях) [32, 47, 62, 63, 64, 104].

Так же, согласно описанию классических определителей известно: «Передних тычинок две, которые развиты нормально, сближены под верхней губой венчика; нити тычинок короткие, задние тычинки редуцированные в маленькие стаминодии, или их нет» [19, 32, 47, 62, 63, 64, 104, 117].

По данным большинства систематиков известно: «Связник линейно-нитевидный, дугообразный, подвижный в месте сочленения с тычиночной нитью или неподвижный, часто длиннее тычиночной нити или короче ее, с сильно неравными коленами или с одинаковыми» [32, 62, 64, 104].

У всех видов рода *Salvia* L. задние гнезда пыльников восходящие, фертильные [19, 32, 62, 64, 104]; передние гнезда пыльников нисходящие, чаще стерильные, измененные или совсем отсутствуют [32, 62, 64, 104].

По описанию ботаников: «У представителей рода *Salvia* L. столбик, как правило, нитевидный, рыльце двулопастное. К тому же у всех орешки яйцевидные, округлые или иногда почти трехгранные, гладкие» [32, 104].

Для ш. дубравного прицветники фиолетовые или пурпурные, широкояйцевидные, при плодоношении отогнуты книзу [62, 104]. У остальных видов прицветники преимущественно зелёные [62, 104].

Все пять видов являются многолетними травянистыми растениями, за исключением *S. officinalis* L., который является полукустарником с деревянистым основанием побегов [32, 64, 104]. *S. verticillata* L. также отличается наличием ползучего буроватого корневища толщиной 5-10 мм [104].

Характер опушения стебля является одним из важных диагностических признаков. Так, по данным литературы известно: «У ш. лекарственного стебель опушенный короткими курчавыми волосками, из-за чего имеет сероватойлочную поверхность, у ш. кустарникового в нижней части побега стебель опушен длинными спутанными волосками, в верхней части побега имеет

значительное железистое опушение» [104]. Из источников литературы также известно: «У ш. дубравного стебель коротко-серовато-пушистый, без железистых волосков» [64, 104]. Имеются сходства опушения ш. мутовчатого у которого стебель шершавоволосистый, а в верхней части побега стебель клейкий от обильных железистых волосков [32, 104]. Стебель ш. поникающего с поверхности опушен короткими прижатыми волосками и железками на короткой ножке [104].

Виды рода *Salvia* L. различаются по наличию прикорневых листьев, их форме и опушению пластинки. Прикорневые листья отсутствуют у ш. дубравного и ш. мутовчатого, образуют розетку у ш. поникающего и имеются у ш. лекарственного и ш. кустарникового [19, 32, 47, 62, 63, 64, 104, 117].

Форма и край стеблевых листьев служат надёжными диагностическими критериями [19, 32, 47, 62, 63, 64, 104, 117]. Морфология листового аппарата рассматриваемых видов имеет четкие различия. Листовые пластинки ш. лекарственного продолговатые (размером 3,5–8 × 0,8–1,5 см), их край характеризуется мелкой городчатостью. Для ш. кустарникового типичен диморфизм: нижние листья имеют продолговато-яйцевидную форму, тогда как верхние — ланцетную, с городчатым или двоякозубчатым краем. В то же время ш. дубравный обладает продолговато-ланцетной листовой пластинкой (3,5–11 × 1,2–4 см) с городчатым окаймлением, при этом пластинки верхнего яруса часто расширены и снабжены крупными острыми зубцами. Ш. мутовчатый выделяется треугольно-яйцевидными листьями (4–13 × 3–10 см) с характерными ушками при основании и неравно городчато-зубчатым краем. У ш. поникающего стеблевые листья ланцетные или шиловидные, мелкие, а прикорневые — яйцевидно-сердцевидные (4–16 × 2–9 см) с однажды или дважды городчатым краем [19, 32, 47, 62, 63, 64, 104, 117].

Опушение листовой пластинки также видоспецифично [19, 32, 47, 62, 63, 64, 104, 117]. Так из литературных данных выявлено: «Ш. лекарственный имеет с обеих сторон густое серовато-войлочное опушение, придающее листьям морщинистый вид. У ш. кустарникового верхняя сторона голая, нижняя опушена по жилкам. Ш. дубравный отличается голой или слабо морщинистой верхней

стороной и опушённой нижней. Листовая пластинка ш. мутовчатого опушена с обеих сторон длинными оттопыренными волосками, с резко выступающими жилками снизу. У ш. поникающего листовая пластинка имеет голую морщинистую верхнюю сторону и густо серовато-пушистую нижнюю» [19, 32, 47, 62, 63, 64, 104, 117].

#### **1.4. Ареал произрастания и культивирования некоторых представителей рода *Salvia* L.**

По литературным данным известно, что «центром видового многообразия представителей рода *Salvia* L. являются горные области Мексики и Южной Америки, Средиземноморья, Передней и Восточной Азии, также на территории России и сопредельных государств произрастает около 80 видов рода *Salvia* L.» [21, 27, 32, 62, 64, 104, 155, 180,]. Для ш. лекарственного родиной является Средиземноморье, в России его культивируют [19, 32, 62, 64, 91, 98, 104, 114, 155, 180].

Ш. поникающий растет в степях европейской части России, на Северном Кавказе, в Крыму, а также на Украине [21, 32, 62, 64, 104, 155, 180].

Ш. дубравный является европейско-переднеазиатским видом. Согласно литературным данным: «Он распространен в европейской части бывшего СССР, на Кавказе, в Западной Сибири и Средней Азии. Встречается довольно широко на Украине, реже – в районах Полесья» [11, 32, 62, 64, 98, 104, 111, 155, 180].

Ш. кустарниковый произрастает в сухих степях, разреженных остепнённых лесах, склонах Алтая, Красноярского края, Западной Сибири, Центральной, Восточной, Южной и Северо-Западной России, а также Украины, Румынии и Казахстана [11, 32, 62, 64, 104, 155, 180].

Ш. мутовчатый встречается в степях с перегнойно-карбонатными почвами, меловыми обнажениями во всех областях средней полосы европейской части России [11, 32, 62, 64, 104, 155, 180].

## 1.5. Современные данные о химическом составе некоторых представителей рода *Salvia* L.

Благодаря обширному опыту применения в медицине, растения рода *Salvia* остаются приоритетным объектом для изучения их нутрицевтического и фармакологического потенциала. Исследовательский интерес обусловлен наличием в сырье комплекса биологически активных веществ: дитерпенов, фенилпропаноидов и флавоноидов. Важную роль в составе играют также эфирные масла (преимущественно монотерпенового ряда) и прочие активные терпеноиды [5, 14, 27, 39, 40, 41, 42, 55, 65, 82, 87, 95, 105, 111, 114, 119, 130, 136, 140, 145, 146, 149, 151, 152, 153, 156, 158, 160, 168, 170, 173, 174]. Именно они определяют терапевтическое значение растений рода *Salvia* L. в современной медицинской практике [39, 40, 41, 42, 65, 105].

Одной из основных групп БАС ш. лекарственного и его близко родственных видов являются дубильные вещества [87, 95, 140, 168]. Так, в листьях ш. лекарственного содержание дубильных веществ может достигать 10%, за счет которых характерны вяжущие и противовоспалительные свойства [55]. Количественное содержание дубильных веществ определяют различными способами: метод Левенталя-Курсанова (перманганатометрия), потенциометрия и спектрофотометрия [55, 70, 87, 95, 140].

Использование того или иного метода позволяет определить как сумму дубильных веществ, так и определенную группу (гидролизуемые и конденсированные) (табл. 2) [52, 55, 70, 87, 95, 140, 158]

Таблица 2 – Сравнительная характеристика некоторых видов рода *Salvia* L. по наличию и количественному содержанию полифенолов, в %

Наименование группы веществ	Ш. лекарственный	Ш. дубравный	Ш. поникающий	Ш. кустарниковый	Ш. мутовчатый
Гидролизуемые дубильные вещества	1,73 ± 0,2 [95] 1,83 ± 0,04 [160] 1,28±0,03 [87]	1.40 ± 0.12 [160]	н/д	1,64±0,02 [87]	1,67 ± 0,09 [160]

	1,5 ± 0,20 [52]				
Конденсированные дубильные вещества	3,98 ± 0,18 [95] 2,72 ± 0,06 [87] 3,05 ± 0,35 [52]	н/д	н/д	2,94±0,03 [87]	н/д
Сумма полифенолов	5,71 ± 0,43 [95]  4,0 ± 0,03 [87, 158] 4,0 ± 0,40 [52]	От 4,15 ± 0,14 до 5,22 ± 0,15 [70, 158]  4,25 ± 0,06 [140]	2,75 ± 0,03 [140, 158]	4,4 ± 0,02 [87, 158]	8,25 ± 0,06 [140, 158]  От 3 до 6 [18]

Примечание: «н/д» - не найдены литературные данные

В таблице 2 представлены систематизированные данные о количественном содержании дубильных веществ в пяти видах рода *Salvia* L.

Метод перманганатометрии является недостаточно точным, поскольку он определяет не только дубильные вещества, но и другие окисляемые группы соединений, в частности, простые фенольные соединения, что приводит к завышению значений (табл. 2) [55, 70, 87, 95, 140]. В связи с этим представляется целесообразным использование спектрофотометрических методов для определения суммы дубильных веществ, а также их внедрение в ФС 2.5.0051 «Шалфей лекарственного листа» наряду с методом перманганатометрии [23].

В современной научной и справочной литературе в качестве основных групп БАС в различных видах рода *Salvia* L. указывают дитерпеновые соединения: карневал, сальвинорины А и В, карнозол и карнозоловая кислота являются ключевыми соединениями многих представителей *Salvia* L. [40, 41, 42, 65, 82, 105, 119, 136, 145, 146, 151, 158, 168, 170, 173, 174]. Дитерпеновые соединения проявляют выраженную противомикробную, антиоксидантную активности, а также противовоспалительные свойства и нейропротекторное действие [40, 41, 65, 105]. Примечательно, что большинство авторов считают, что именно дитерпены отвечают за многие полезные эффекты препаратов, полученных из шалфея. Обзор научной литературы позволил обобщить данные по наличию и процентному содержанию основных дитерпенов в шалфеех (табл. 3) [40, 41, 42, 65, 82, 105, 119, 136, 145, 146, 151, 158, 168, 170, 173, 174].

Таблица 3 – Сравнительная характеристика некоторых видов рода *Salvia* L. по содержанию дитерпенов, в %

Наименование компонента	Ш. лекарственный	Ш. дубравный	Ш. понижающий	Ш. кустарниковый	Ш. мутовчатый
Карнозоловая кислота	+ [40, 55, 82, 151, 158] От $0,8 \pm 0,1$ до $1,17 \pm 0,43$ [119, 145, 146]	– [119, 158] От $0,17 \pm 0,01$ до $0,33 \pm 0,02$ [119]	– [158]	+ [172]	– [158] От $0,01 \pm 0,002$ до $0,60 \pm 0,08$ [119, 145]
Карнозол	+ [55, 145, 146, 151, 158]	н/д	н/д	н/д	+ [145]
Хинон карнозоловой кислоты	+ [55] корни	н/д	н/д	н/д	н/д
12-О-Метилкарнозоловая кислота	+ [158]	+ [158]	н/д	н/д	+ [158]
Розманол I	+ [158]	+ [158]	н/д	н/д	н/д
12-Дезокси-7,7-диметокси-6-кетороиллеан		+ [158]	+ [158]	н/д	н/д
Росманол II	+ [158]	н/д	н/д	н/д	н/д
Росманол III	+ [158]	н/д	н/д	н/д	н/д
Гидроксикарнозиновая кислота II	н/д	+ [158]	н/д	н/д	н/д
Ацетилхортинон II	н/д	н/д	н/д	н/д	+ [158]
Метоксикарнозол	+ [158]	н/д	н/д	н/д	н/д
Дигидроксикарнозиновая кислота	н/д	+ [158]	н/д	н/д	н/д
Розмадиал	+ [158]	+ [158]	н/д	н/д	н/д
Сальвипилиферол	н/д	н/д	+ [158]	н/д	н/д
Гидроксисальвиол	н/д	н/д	+ [158]	н/д	н/д
Ацетилхортинон III	+ [158]	н/д	н/д	н/д	н/д
Розмарицифенол	+ [158]	н/д	н/д	н/д	н/д
Сальвиол	н/д	н/д	+ [158]	н/д	н/д
Фитол	н/д	н/д	н/д	+ [156, 157, 168, 173]	+ [136, 149, 156, 168, 173, 174,]
Цис-, цис-неофитадиен	+ [170]	н/д	н/д	н/д	– [170]
Цис-, транс-неофитадиен	+ [152, 170]	+ [152]	– [152]	– [152]	– [152, 170]

Транс-, транс-неофитадиен	+ [170]	н/д	н/д	н/д	– [170]
Маноол	+ [152]	– [152]	– [152]	– [152]	– [152]
Эпи-маноол	+ [170]	н/д	н/д	н/д	+ [170]

\* (+) в таблице означает доказанное присутствие компонента; (–) в таблице означает доказанное отсутствие в объекте; «н/д» - не найдены литературные данные

Из таблицы 3 видно, что карнозоловая кислота является единственным компонентом, присутствующем почти во всех видах рода *Salvia* L. [40, 55, 82, 119, 145, 146, 151, 158]. Другие вещества из группы дитерпенов зачастую являются минорными компонентами конкретных видов.

Не менее значимой группой БАС для различных видов рода *Salvia* L. следует считать флавоноиды. В большинстве источников в качестве основных представителей флавоноидов, содержащихся в ш. лекарственном и других видах рода *Salvia* L., указывают рутин, цинарозид, апигенин и лютеолин [5, 14, 27, 55, 111, 134, 140, 152, 156, 158, 160] (табл. 4).

Таблица 4 – Сравнительная характеристика некоторых видов рода *Salvia* L. по наличию и количественному содержанию флавоноидов, в %

Наименование компонента	Ш. лекарственный	Ш. дубравный	Ш. понижающий	Ш. кустарниковый	Ш. мутовчатый
Рутин	0,0075 [5, 27, 160] – [152]	– [152, 160] 0,027 [140]	– [152] 0,032 [140]	0,036 [152]	– [14, 160] 0,0056-0,061 [140, 152]
Лютеолин-7-О-глюкозид (цинарозид)	0,006-0,2 [5, 27, 55, 111, 152, 158, 160]	0,549 [152, 158] – [160]	0,235 [152, 158]	0,025 [152]	0,7 [14, 152, 158] – [160]
Лютеолин (агликон)	0,0028-0,03 [5, 27, 55, 152, 158, 160]	0,026 [140, 158] – [152]	0,088-0,437 [140, 152] – [160]	– [152]	0,0031-0,324 [14, 140, 152, 160] – [152]
Апигенин (агликон)	0,0013-0,04 [5, 27, 55, 152, 160] н/н [158]	– [152, 158, 160] 0,006 [140]	– [152, 158] 0,031 [140]	– [152]	– [14, 152, 158, 160] 0,006 [140]

Кверцетин	– [160]	– [140]	– [140]	н/д	0,0059 [14, 160] – [140]
Апигенин-7-О-глюкозид (космосиин)	– [152, 160]	+ [158] – [152, 160]	0,051 [152]	– [152]	– [160] 0,407 [152]
Лютеолин-7-О-глюкуронид	+ [134, 156, 158]	+ [111]	+ [158]	н/д	+ [158]
Сумма	От 1,08 до 1,7 % [5, 27, 72]	От 2,67 ± 0,09 до 3,77 ± 0,10 [70] 3,7 [111]  0,12 ± 0,004 [140]	0,1 ± 0,002 [140]	2,09±0,10 [46] 5,72-5,82 [86]	0,17 ± 0,003 [140]  От 1,0 до 1,7 [18]

\* (+) в таблице означает доказанное присутствие компонента; (-) в таблице означает доказанное отсутствие в объекте; «н/д» - не найдены литературные данные

Согласно современным данным во многих видах рода *Salvia* L. содержится цинарозид как гликозидная форма лютеолина [5, 14, 27, 55, 111, 134, 152, 156, 158, 160]. При этом отмечено, что часто встречается и лютеолин-7-глюкуронид [134, 156, 158].

Согласно литературным источникам, посвящённым химическому составу для представителей рода *Salvia* L.: «Характерным является наличие 5,7-дигидрокси-6-метоксифлавонов, производных флавона - апигенина, 6-гидроксиапигенина, лютеолина и 6-гидроксилютеолина; производных флавонола - кверцетина и кемпферола. В роде *Salvia* L. обнаружено большое разнообразие метоксилированных флавонов и флавонолов с содержанием от 1 до 4 метоксигрупп, причем некоторые из этих соединений встречаются в гликозидной форме» [5, 14, 27, 152, 158, 160].

Установлено, что суммарное содержание флавоноидов в надземной части колеблется и является видовой специфичностью [27]. Так, известно, что для листьев *S. nemorosa* L. сумма флавоноидов находится в диапазоне от 0,12 % до 3,7 % [70, 140, 111], в листьях *S. officinalis* L. – от 1,08 до 1,7 % [5, 27, 72], ш. мутовчатого – от 0,17 до 1,7 % [18, 140], ш. кустарникового – от 2,09 до 5,82 % [46, 86] и ш. понижающего – 0,1% ± 0,002% [140].

Широкое распространение в растениях рода *Salvia* данных флавоноидов трактуется рядом исследователей как возможность проведения видовой идентификации объектов особенно в фармацевтическом анализе [22, 23, 25]. Необходимо отметить, что в ГФ РФ XIV издания в ФС на листья ш. лекарственного в качестве одного из стандартов используется 7-О-глюкозид лютеолина (цинарозид) – доминирующий флавоноид ш. лекарственного [22]. Однако в ГФ РФ XV издания данный метод уже отсутствует [23].

К группе БАС, содержащихся во всех видах рода *Salvia* L., относятся монотерпены, сесквитерпены и их производные, входящие в состав эфирного масла [55, 114, 130, 136, 138, 149, 152, 153, 156, 168, 170, 173, 174]. Согласно литературным данным, основными компонентами эфирного масла ш. лекарственного являются  $\alpha$ -туйон, 1,8-цинеол, борнеол, камфен и  $\alpha$ -пинен, обеспечивающие характерный аромат надземной части растения, а также антисептическое и антибактериальное действие [55, 114, 130, 136, 138, 149, 152, 153, 156, 168, 170, 173, 174].

Необходимо отметить, что стандартизация сырья ш. лекарственного традиционно предусматривает количественное содержание эфирного масла [23], однако данные по его компонентному составу, позволяющие проводить химическую таксацию видов, не использованы в полной мере. Нами проведён обзор литературных источников и составлена таблица сравнения компонентного состава эфирного масла пяти видов рода *Salvia* L. (табл. 5).

Таблица 5 – Сравнительный состав компонентов эфирного масла представителей  
рода *Salvia L.*, в %

Наименование ХИМИЧЕСКОГО вещества	Ш. лекарственные	Ш. дубравный	Ш. поникающий	Ш. куртарниковый	Ш. мутьвяный
Монотерпены					
$\alpha$ -Туйон	0- <b>33,6</b> [55, 114, 138, 152, 153, 170, 176, 173]	0 – <b>17,3</b> [152, 153, 173]	0 [152]	0-0,59 [45, 152, 156, 157, 168, 173]	0- <b>11,0</b> [152, 176, 170]
$\alpha$ -Пинен	0 - <b>23</b> [138, 152, 153, 170, 173]	0 - 2,8 [152, 153, 173]	0 [152]	0-2,88 [45, 152, 156, 157, 168, 173]	0 – <b>21,1</b> [130, 136, 149, 152, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
Камфен	0,02 - <b>21,6</b> [170, 152, 153]	0 - 0,4 [152, 173, 153]	0 [152]	0- <b>17,26</b> [45, 152, 156, 157, 168, 173]	0 – 2,39 [130, 136, 149, 152, 153, 156, 168, 170, 173, 174, 176]
Сабинен	0 [152, 153]	0 – 75,8 [152, 153]	0 [152]	0-0,6 [45, 152, 156, 157, 168, 173]	0 – 4,44 [130, 136, 149, 152, 153, 156, 168, 170, 173, 174, 176]
$\beta$ -Пинен	0 – 8,2 [152, 153, 170, 176]	1,2 - 3,5 [152, 153]	0 [152]	0 [152]	0 – 6,1 [130, 136, 149, 152, 153, 156, 168, 170, 173, 174, 176]
<i>n</i> -Цимен	0,2 [152]	<b>42,1</b> [152]	0 [152]	0 [152]	0-1,0 [136, 149, 152, 153, 156, 168, 173, 174]
<i>o</i> -Цимен	1,1 [153]	0 [153]	н/д	н/д	0-0,6 [136, 149, 152, 168, 173, 174]

Наименование ХИМИЧЕСКОГО Вещества	III лекарственные III дубравный	III. поникающий	III. кустарниковый	III. муточный
1,8-Цинеол	1,8 - <b>14,33</b> [55, 114, 138, 152, 153, 170]	0 [152]	0-0,13 [45, 152, 156, 157, 168, 173]	0 - <b>18,4</b> [130, 136, 149, 152, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
β-Туйон	1,7 - <b>12,4</b> [55, 114, 138, 152, 170]	0 [152]	0 [152]	0 - 2,5 [130, 136, 149, 152, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
Туйол	н/д	н/д	<b>0-8,42</b> [156, 157, 168, 173]	0-2,18 [130, 136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
Тимол	0,0003 [173]	н/д	0-0,46 [156, 157, 168, 173]	0-0,4 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
β-Мирцен	0,17 - 1,3 [153, 170]	н/д	н/д	0 - 6,6 [130, 136, 149, 153, 170, 173, 174]
α -Фелландрен	0 [153]	н/д	н/д	1,4- 2,8 [153]
δ-3-Карен	0 [153]	н/д	н/д	0 - 2,2 [153]
α-Терпинен	0,005 - 0,4 [153, 170, 173]	н/д	0-0,2 [156, 157, 168, 173]	0 - 1,2 [130, 136, 149, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
Цис-β-оцимен	0 - 0,5 [153]	н/д	н/д	0 - 1,54 [130, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
Транс-β-оцимен	0 - 0,0002 [153, 173]	н/д	0 [173]	0 - 7 [130, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
γ-Терпинен	0,1 - 0,3 [153, 170]	н/д	0-0,11 [156, 157, 168, 173]	0 - 1,1 [130, 136, 149, 153, 156, 168, 170, 173, 174]

Наименование химического вещества	III лекарственные	III дурявны	III. понкаюций	III. кустарниковы	III. мутовчатый
δ-Терпинен	0,2 [153]	0 [153]	н/д	-	0 [153]
Линалоол	0 - 0,22 [153, 170]	0 [153]	н/д	0-0,1 [156, 157, 168, 173]	0 - 2,2 [130, 136, 149, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
Камфора	6,334- <b>19,8</b> [55, 114, 138, 152, 153, 170]	0 - 1,2 [152, 153]	0 [152]	0-2,66 [152, 156, 157, 168, 173]	0-5,23 [130, 136, 149, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
Пинокарвон	0 [152]	0,8 [152]	0 [152]	0 [152]	0-0,2 [130, 152]
Транс-линалоолоксид	0,140 [170]	н/д	н/д	н/д	0 [170]
Транс-сабиненгидрат	0,148 [170]	н/д	н/д	н/д	0 - 0,2 [130, 170]
Цис-линалоолоксид	0,089 [170]	н/д	н/д	н/д	0 [170]
Валеранон	0 [170]	н/д	н/д	н/д	0 - 3,298 [136, 149, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
п-Мента-1,8-диен-7-ол	н/д	н/д	н/д	н/д	0,2 [130]
δ-3-Карен	н/д	н/д	н/д	н/д	1,3 [130]
п-Цимол	н/д	н/д	н/д	н/д	1,1 [130]

Наименование химического вещества	III лекарственный	III дубавный	III. поникающий	III. курарниковый	III. муточный
Транс-вербенон	н/д	н/д	н/д	н/д	0,4 [130]
Транс-карвеол	0,0001 [173]	0 [173]	н/д	0,0001 [173]	0-0,2 [173, 130]
Дигидроактинидио лид	0 [152]	0 [152]	0 [152]	0 [152]	0,6 [152]
Сабинен гидрат	н/д	н/д	н/д	н/д	0-0,1 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
Вербенон	н/д	н/д	н/д	н/д	0 – 0,8 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
$\beta$ -Фелландрен	н/д	н/д	н/д	н/д	0 – 55,5 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
<b>Сесквитерпены</b>					
$\beta$ -Кубебен	0,0003 [173]	0 [173]	н/д	0-0,8 [156, 157, 168, 173]	0 – 0,8 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
$\alpha$ -Гурджунен	н/д	н/д	н/д	0-0,33 [156, 157, 168, 173]	0 – 3,22 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
Селинен	н/д	н/д	н/д	0-2,6 [156, 157, 168, 173]	н/д
Аромандрен	н/д	н/д	н/д	0-0,52 [156, 157, 168, 173]	0-2,2 [156]

Наименование ХИМИЧЕСКОГО Вещества	III лекарственные	III дубравный	III. понижающий	III. куртарниковый	III. муточный
Спатуленол	0 – 0,0003 [152, 173]	0 [152, 173]	1 [152]	0- <b>10,75</b> [152, 156, 157, 168, 173]	0 – <b>44,2</b> [136, 149, 152, 153, 156, 168, 173, 174]
1,5- Эпоксисальвиал- 4(14)-ен	0 [152]	0 [152]	1 [152]	0 [152]	0 [152]
$\alpha$ -Аморфен	0 – 0,0005 [152, 173]	0 [152, 173]	0 [152]	0 [152, 173]	0 [152, 173]
$\alpha$ -Кадинол					1,125 [170]
$\alpha$ -Копаен	0- 0,0007 [152, 153]	0 [152, 153, 173]	0 [152]	0 – 0,0003 [152, 173]	0 – 2,3 [136, 149, 152, 153, 156, 168, 173, 174]
$\beta$ -Бурбонен	0 – 0,0004 [152, 153, 170, 173]	0 – 0,0001 [153, 152, 173,] ]	0 [152]	0 – 0,0001 [152, 173]	0 – 3,1 [136, 149, 152, 153, 156, 168, 173, 170, 174]
$\beta$ -Кариофиллен	1,2- <b>6,097</b> [152, 153, 170, 173]	0 – 2,2 [152, 153, 173]	0 [152]	0- <b>13,21</b> [152, 156, 157, 168, 173]	0 – <b>24,4</b> [136, 149, 152, 153, 156, 168, 173, 170, 174]
$\alpha$ -Гумулен	0,04 – 4,076 [153, 170, 173,] ]	0 - 0,0002 [153, 173]	н/д	0-1, 173 [156, 157, 168, 173]	0 – <b>8,61</b> [136, 149, 152, 153, 168, 173, 170, 174]
$\gamma$ -Муролен	0 - 0,0031 [153, 173]	0 [153, 173]	н/д	0 [173]	0 – <b>7,9</b> [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
$\delta$ -Кадинен	0 - 0,0036 [170, 173, 153]	0 [152, 153, 173]	н/д	0-6,77 [156, 157, 168, 173]	0 – 1,5 [136, 149, 153, 156, 168, 170, 173, 174]

Наименование химического вещества	III лекарственный	III дурбавный	III. понижающий	III. куртарниковый	III. муточагы
Виридифлорол	7,7-11,723 [170, 152]	0 [152]	0 [152]	0 [152]	0-15,502 [136, 149, 152, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
β-Фарнезен	0 [170]	н/д	н/д	0-0,18 [156, 157, 168, 173]	0 – 2,4 [136, 149, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
Элемен	0 [153]	0 [153]	н/д	0-0,45 [156, 157, 168, 173]	0 – 0,8 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
Цедрен	+ [55, 138]	н/д	н/д	н/д	н/д
Гермакрен D	0 – 0,0002 [170, 173]	0,0036 [173]	н/д	0-1,13 [156, 157, 168, 173]	0 – 40,7 [136, 149, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
Гермакрен А	0,002 [173]	0 [173]	– н/д	0 [173]	0 [173]
Гермакрен В	н/д	н/д	н/д	н/д	0 – 35,7 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
Бициклогермакрен	0 [170]	н/д	н/д	0-5,59 [156, 157, 168, 173]	0-14,8 [170, 156]
Цис-α-бисаболен	0 [170]	н/д	н/д	н/д	0 – 0,58 [136, 149, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
<b>Монотерпеновые спирты</b>					
Борнеол	0,553-4,4 [55, 138, 152, 153, 170]	0 [152, 153]	0 [152]	0 [152]	0 – 0,6 [130, 136, 149, 152, 153, 156, 168, 170, 173, 174]

Наименование химического вещества	III лекарственные	III. дубравный	III. поникающий	III. курстарниковый	III. мутовчатый
Терпинен-4-ол	4,113 [170]	н/д	н/д	н/д	0-2,226 [136, 149, 153, 156, 168, 170, 173, 174]
Карвакрол	0,0002- 0,0003 [173]	0,0002 [173]	н/д	0,0002 [173]	0-2,5 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
Миртенол	0,005 [173]	0,0002 [173]	н/д	0,0003 [173]	0-0,1 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
Нерол	н/д	н/д	н/д	н/д	0-28,1 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
<b>Сесквитерпеновые спирты</b>					
Глобулол	0 [170]	н/д	н/д	н/д	0,421 [170]
Неролидол	н/д	н/д	н/д	н/д	0-35 [136, 149, 153, 156, 168, 173, 174]
Эпи- $\alpha$ -кадинол	0 [170]	н/д	н/д	н/д	0,996 [170]
<b>Кислородосодержащие терпеноиды</b>					
Борнилацетат	0,81-2,4 [55, 152, 153, 170]	0 [153]	н/д	н/д	0,2 - 0,7 [153, 170]

\* «н/д» в таблице означает отсутствие данных в литературе

Исходя из таблицы 5 видно, что компонентный состав разнообразен и в ряде случаев позволяет отличить виды растений друг от друга по минорным компонентам.

В составе надземной части ш. лекарственного, а также других видах рода *Salvia* L. имеются и тритерпеновые сапонины. В частности, установлено наличие олеаноловой и урсоловой кислот [55, 114, 117, 142, 158]. При доминировании урсоловой кислоты в фармакопейном виде шалфея [55, 114, 117, 142, 158]. По источникам литературы составлена таблица 6, включающая сравнительную

характеристику содержания тритерпеновых компонентов в различных видах рода *Salvia* L. (табл. 6).

Таблица 6 – Сравнительное содержание тритерпеновых соединений (%) в различных видах рода *Salvia* L. [55, 114, 117, 136, 142, 149, 153, 156, 157, 158, 168, 173 174]

Наименование компонента	Ш. лекарственный	Ш. дубравный	Ш. понижающий	Ш. кустарниковый	Ш. мутовчатый
Урсоловая кислота	3,825	0,507-1,261	0,256	0,154-0,450	0,594-0,998
Олеаноловая кислота	1,559	0,150-0,441	0,507-1,306	0,065-0,129	0,392-0,579
Сквален	н/д	н/д	н/д	0-20,1	0 – 0,7
β-Ситостерин	н/д	н/д	н/д	0-2,77	н/д

\* «н/д» в таблице означает отсутствие данных в литературе.

Из приведённой таблицы 6 видно, что наибольшее содержание тритерпеновых соединений отмечается в листьях ш. лекарственного. Приведенные данные говорят о перспективности его надземной части в качестве источника тритерпеновых сапонинов [114, 117].

Ещё одной из важных групп БАС для многих представителей рода *Salvia* L. являются фенилпропаноиды [14, 55, 54, 140, 152, 158, 160]. Одним из фенилпропаноидов, описанных для многих видов рода *Salvia* L., является розмариновая кислота, проявляющая широкий спектр биологической активности, включая антимикробную, противовирусную и противовоспалительную активность [14, 54, 55, 140, 152, 158, 160]. Однако в фармакопейном анализе для ЛРС ш. лекарственного данную группу не анализируют. Исходя из её вклада в фармакологическую активность препаратов ш. лекарственного, качественное присутствие розмариновой кислоты и её количественное содержание является перспективным направлением совершенствования современной НД [14, 55, 140, 152, 158, 160].

На основе опубликованных данных составлена таблица сравнительного содержания группы фенольных соединений в обсуждаемых видах шалфея (табл. 7).

Таблица 7 – Сравнение наличия в составе фенольных соединений\* в различных видах рода *Salvia* L.

Наименование веществ	Ш. лекарственный	Ш. дубравный	Ш. поникающий	Ш. кустарниковый	Ш. мутовчатый
Галловая кислота	12,69 ± 0,06 в экстракте + [158]	9,84 ± 0,04 / 7,47 ± 0,02 экстракта+ [158]	6,61 ± 0,02 экстракта+ [158]	н/д	10,76 ± 0,01 экстракта+ [14, 158]
Кофейная кислота	0,013-0,3 [54, 152, 160]	<0,5 [54, 111, 140 152, 158, 160]	<0,009 [140, 152, 158]	0,003 [152]	0,074-4,1 [14, 140, 152, 158, 160]
<i>n</i> -Кумаровая кислота	1,16 [160]	0,0015-0,6 [111, 140, 160,]	0,04 [140]	н/д	0,006-8,4 [140, 160,]
Феруловая кислота	– [160]	– [160]	н/д	н/д	2,2 [14, 160]
Розмариновая кислота	0,057-3,88 [54, 55, 152, 158, 160]	0,31-1,42 [54, 152, 158, 160,]	0,012 [152, 158]	0,12 [152]	0,052-3,02 [14, 152, 158, 160]
Хлорогеновая кислота	1,9 [160]	0,19-1,1 [111, 114, 140 160]	<0,000002 [140]		1,5 [160] – [140]
Сальвианоловая кислота В	+ [158]	+ [158]	н/д	н/д	н/д
Сальвианоловая кислота А	+ [158]	+ [158]	н/д	н/д	+ [158]
Дигидроксibenзойная кислота	н/д	+ [158]	н/д	н/д	
Гидроксibenзойная кислота	+ [158]	+ [158]	н/д	н/д	+ [158]
Кофеилтреониновая кислота	н/д	+ [158]	н/д	н/д	
Сальвианоловая кислота К	+ [158]	+ [158]	н/д	н/д	+ [158]
Сальвианоловая кислота Н	+ [158]	+ [158]	н/д	н/д	+ [158]
Кофеиновая кислота-О-гексозид	+ [158]	н/д	+ [158]	н/д	н/д
Трикумароилспермидин	н/д	+ [158]	н/д	н/д	н/д

\* (+) в таблице означает доказанное присутствие компонента; (-) в таблице означает доказанное отсутствие в объекте; \* «н/д» в таблице означает отсутствие данных в литературе.

При этом выявлены общие фенольные соединения. В частности фенилпропаноиды такие как кофейная кислота, розмариновая кислота, *n*-кумаровая кислота, хлорогеновая кислота являются характерными для представителей рода *Salvia* L. [14, 54, 55, 140, 152, 158, 160]. Рядом исследователей трактуется особенность характерная для представителей рода *Salvia* L.: «Наличие олигомеров кофейной кислоты. Так, в составе полифенольной фракции листьев *S. officinalis* L. методами ВЭЖХ, масс- и ЯМР-спектроскопии были обнаружены: димер кофейной кислоты - розмариновая кислота; тримеры - сальвианоловые кислоты I и K; тетрамеры - сейджриновая кислота и сальвианоловая кислота L» [27]. Обнаружены также минорные компоненты, селективно отличающие виды друг от друга [27]. В частности, присутствие трикумароилспермидина, кофеилтреониновой кислоты и дигидроксibenзойной кислоты описано только для ш. дубравного [27, 158].

#### **1.6. Применение в народной и научной медицине некоторых представителей рода *Salvia* L.**

Согласно литературным данным, по микробиологическим исследованиям рода *Salvia* L. известно следующее: «Экстракты на спирте этиловом 80% ш. лекарственного, ш. дубравного, ш. поникающего и ш. мутовчатого обладают противомикробной активностью в отношении грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619), грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) и одного патогенного гриба (*Candida albicans* ATCC 10231)» [158].

На фармацевтическом рынке Российской Федерации представлены препараты на основе листьев ш. лекарственного: ЛРС для приготовления настоя; таблетки; таблетки для рассасывания; спиртовой раствор Сальвин-ВИФ [26]. За рубежом листья шалфея лекарственного тоже применяются в медицине. На европейском рынке представлены средства: настойка (1:10) и жидкий экстракт (1:1) на 70% этиловом спирте, сухой экстракт (4-7:1), полученный экстракцией водой, жидкий экстракт (1:3,5-5) на 31,5% этиловом спирте, жидкий экстракт (1:4-5) на

50% этиловом спирте, жидкий экстракт (1;4-6), растворитель для экстракции ликерное вино: 96% этиловый спирт (38,25: 61,75 м/м), сухой экстракт из свежих листьев (1:17-18) на 68% этиловом спирте [131]. В Британской фармакопее из листьев шалфея лекарственного готовят настойку (1:10) на 70% этиловом спирте [124].

По литературным данным известно: «В Болгарии листья шалфея применяют как средство, ограничивающие потоотделение, показанное при ночных потах у больных туберкулезом легких; для женщин в климактерический период, а также как средство, уменьшающие лактацию у кормящих матерей; при гастритах, колитах, язве желудка, воспалении печени и желчного пузыря [20, 75].

В польской медицинской практике ш. лекарственный также эффективно используется для коррекции избыточного потоотделения. В дерматологических целях препараты на его основе назначаются наружно для борьбы с алопецией [113, 114]. В немецкой терапевтической практике шалфей востребован как эффективное нейропротекторное средство, способствующее стабилизации функций ЦНС при треморе конечностей. Его также назначают для купирования ночного гипергидроза и в качестве препарата, подавляющего избыточную лактацию. Аналогично широкое распространение трава растения получила во французской медицине. Параллельно австрийскими исследователями был детально изучен нутриентный профиль листьев *Salvia officinalis*, в которых зафиксировано наличие витаминов группы В, фактора РР и фитоэстрогенов [12, 75, 127, 135, 162].

Дополнительно *Salvia officinalis* находит применение в терапии патологий желудочно-кишечного тракта, а также при катаральных явлениях в ротоглотке и тонзиллите, выступая в роли местного анальгетика для полосканий. В рамках корейской медицинской школы растение ценится за его антифлогистические и обезболивающие свойства. Его назначают при ревматоидном артрите, алгиях в конечностях, лимфадените, фурункулезе и дисменорее аллергического генеза [50, 113, 135]. Применяются листья ш. лекарственного в гомеопатии [123]. Согласно регламентам немецкой гомеопатической фармакопеи, в производстве предпочтительно использование свежего растительного сырья. С 1898 года в

медицинской практике применяется гомеопатическое средство на основе листьев *Salvia officinalis*. Данный препарат предназначен для перорального приема при выраженной астении и истощении организма, профузном потоотделении в период менопаузы, а также для купирования гиперлактации у кормящих женщин [16, 123].

Все эти виды шалфея используются в народной медицине в связи с широким спектром биологической активности (антимикробное, противовоспалительное, вяжущее, ветрогонное и отхаркивающие действия) [44, 50, 117]. Зеленые листья используют при проблемах с памятью, с ночным потоотделением и водянке [2].

В международной медицинской практике *Salvia officinalis* признан эффективным природным антиоксидантом. Традиционно препараты на его основе назначаются в форме местных орошений и полосканий при острых тонзиллитах, гингивитах, а также при ангулярном хейлите, который часто диагностируется в педиатрии. Кроме того, растение включают в схему лечения эпидемического паротита [50, 165]. Терапевтическое применение растения возможно в форме водных или спиртовых экстрактов, а также измельченного порошка. Для купирования опухолей практикуется наружная аппликация свежей травы. Оптимизация процесса получения высокоактивных антибактериальных настоев предполагает замену водной основы на слабый (1%) раствор соды [4, 105].

Цитотоксическая активность шалфея подробно не изучалась, но было доказано, что розмариновая кислота и экстракты шалфея вызывают апоптоз в клеточных линиях колоректального рака [4, 151]. Экстракт шалфея оказывает противовоспалительное действие в ходе борьбы с лейшманиозом [151]. Выявлено антиэкссудативное действие препаратов ш. лекарственного. На моделях различных отеков показано, что экстракт из разных частей растения проявляет выраженную антиэкссудативную активность [106]. Субстанции, экстрагированные из наземной части ш. дубравного, обладают широким терапевтическим спектром: они способствуют заживлению ран, снятию боли и воспаления, а также коррекции гипоксических состояний при низкой общей токсичности. По ряду клинически значимых эффектов — муколитическому, антиэкссудативному и

иммуномодулирующему — данный вид растения проявляет более выраженную активность, нежели ш. лекарственный [106].

### **1.7. Применение некоторых представителей рода *Salvia* L. в других областях народного хозяйства**

Рода *Salvia* L. представляет собой полифункциональную культуру, обладающую широким спектром применения. Так, в озеленении он ценится за декоративность, засухоустойчивость и фитонцидные свойства [77].

Известно, что шалфей используется в кулинарии как как пряно-ароматическая добавка, в пищевой промышленности проявляет себя как эффективный антиоксидант и натуральный консервант для молочных продуктов, продлевая их срок хранения [17, 73, 84, 96].

Введение шалфея в кормовые рационы сельскохозяйственных животных способствует оптимизации метаболизма и увеличению мясной и молочной продуктивности [78, 103]. Высокая нектаропродуктивность представителей рода *Salvia* L. определяет ценность культуры как медоноса [1, 112].

Кроме того, трава ш. лекарственного применяется в качестве источника для получения различных косметологических экстрактов [74, 115]. Однако вклад стеблевой части в химический состав готового продукта малоизучено. Кроме того, отсутствуют данные относительно методологии подтверждения подлинности травы ш. лекарственного в сравнении с примесными видами, что, следовательно, является нерешенной проблемой с точки зрения современной стандартизации.

### **1.8. Анализ отечественной и зарубежной нормативной документации на листья *Salvia officinalis* L.**

Для оценки текущего состояния нормативных требований к сырью ш. лекарственного нами был проведен анализ НД СССР, РФ и некоторых зарубежных стран [21-25, 124, 131]. В британской, японской, американской и китайских фармакопеях используется *Salvia miltiorrhiza* Bunge. [164, 175, 177]. Результаты сравнения НД на листья ш. лекарственного приведены в таблице 8 [21-23, 25, 131].

Таблица 8 – Результаты сравнительного анализа НД на листья ш. лекарственного

Разделы ФС	ГФ СССР XI издания	ГФ РФ XIV издания	ГФ РФ XV издания	ГФ Республики Беларусь	Европейская Фармакопея 11 издания
Название сырья	Листья шалфея <i>Folia Salviae</i>	Шалфей лекарственного листа <i>Salviae officinalis folia</i>	Шалфей лекарственного листа <i>Salviae officinalis folia</i>	Листья шалфея лекарственного <i>Salviae officinalis folia</i>	Листья шалфея <i>Salvia officinalis</i> , <i>Salviae officinalis folium</i>
Вид сырья	Используются высушенные листья ш. лекарственного.	Собранные в течение лета, высушенные и обмолоченные листья культивируемого полукустарника ш. лекарственного.	Собранные в течение лета, высушенные и обмолоченные листья культивируемого полукустарника ш. лекарственного.	Используются высушенные листья ш. лекарственного.	Используются высушенные листья ш. лекарственного.
Внешние признаки сырья;	Указано	Указано	Указано	Указано	Указано
Микроскопические признаки	Полноценное описание признаков гистологических признаков цельного сырья. Петиолярные признаки отсутствуют.	Полноценное описание признаков гистологических признаков цельного сырья. Имеется описание петиолярных признаков. Отсутствует описание порошка.	Полноценное описание гистологических признаков цельного сырья. Имеется описание петиолярных признаков. Отсутствует описание порошка.	Полноценное описание гистологических признаков цельного сырья. Петиолярные признаки отсутствуют. Отсутствует описание порошка.	Описание признаков цельного сырья. Отсутствует описание порошка.
Качественные реакции	Не указано	Указано	Указано	Не указано	Не указано
ТСХ	Не указано	НФ – силикагеля. ПФ - этилацетат : муравьиная кислота безводная - вода (14 : 3 : 3), СО лютеолин-7-глюкозида. толуол - этилацетат (93 : 7) СО цинеола	НФ – силикагеля. ПФ – этилацетат : толуол (7 : 93). Исследуемый раствор – порошок остаток, растворенный в спирте этиловом. СО цинеола	НФ – силикагель. ПФ – этилацетат : толуол (5 : 95) СО – туйон и цинеол в эфире. Детектирующий агент-раствор анисового альдегида, УФ 365 нм.	НФ – силикагель. ПФ – этилацетат : толуол (5 : 95). СО – туйон и цинеол в эфире. Детектирующий агент-раствор анисового альдегида, УФ 365 нм.
Допустимые примеси.	Изменившие окраску (потемневшие и почерневшие и	Изменившие окраску (потемневшие и почерневшие) кусочки	Изменившие окраску (потемневшие и почерневшие) кусочки	Кусочки стеблей и цветков – не более 13 %;	

Разделы ФС	ГФ СССР XI издания	ГФ РФ XIV издания	ГФ РФ XV издания	ГФ Республики Беларусь	Европейская Фармакопея 11 издания
	почерневшие) кусочки кусочки листьев: не более 5 %. Другие части растения (цветки и кусочки стеблей и семена): не более 13 %. Органическая примесь: не более 3 %. Минеральная примесь: не более 0,5 %.	листья: не более 5 %. Другие части растения (кусочки стеблей и семена): не более 13 %. Органическая примесь: не более 3 %. Минеральная примесь. Не более 0,5 %.	листья: не более 5 %. Другие части растения (кусочки стеблей и семена): не более 13 %. Органическая примесь: не более 3 %. Минеральная примесь: не более 0,5 %.	почерневшие и побуревшие листья – не более 5 %. Органические примеси: не более 3 %. Минеральные примеси: не более 0,5%.	Посторонние вещества (примеси): стеблей не более 3 % и других примесей не более 2 %.
Тяжёлые металлы и мышьяк	Не указано	В соответствии с ОФС «Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в ЛРС и лекарственных растительных препаратах».	В соответствии с ОФС «Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в ЛРС и лекарственных растительных препаратах».	Не указано	Не указано
Радионуклиды	Не указано	В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в ЛРС и лекарственных растительных препаратах»	В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в ЛРС и лекарственных растительных препаратах»	Не указано	Не указано
Остаточные количества пестицидов	Не указано	В соответствии с ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в ЛРС и лекарственных растительных	В соответствии с ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в ЛРС и лекарственных растительных	Не указано	Не указано

Разделы ФС	ГФ СССР XI издания	ГФ РФ XIV издания	ГФ РФ XV издания	ГФ Республики Беларусь	Европейская Фармакопея 11 издания
Заражённость вредителями запасов	Не указано	препаратах». В соответствии с ОФС «Определение степени заражённости ЛРС».	В соответствии с ОФС «Определение степени заражённости ЛРС».	Не указано	Не указано
Микробиологическая чистота.	Не указано	В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».	В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».	Не указано	Не указано
Числовые показатели	Эфирное масло не менее 0,8%; Влажность не более 14% Зола общая: не более 12,0 %	Влажность: не более 14,0 % Зола общая: не более 12,0 %. Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте: не более 3,0%	Влажность: не более 14,0 %. Зола общая: не более 12,0 %. Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте: не более 30 %	Влажность: не более 14,0 % Зола общая: не более 12,0 %. Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте: не более 5,0%	Воды (влажность): не более 10%, определяемой дистилляцией 20,0 г. Зола общая: не более 10%.
Количественное определение	Содержание эфирного масла методом 1 и 2 по ГФ XI	Эфирное масло определяют в соответствии с требованиями ОФС "Определение содержания эфирного масла в ЛРС и лекарственных растительных препаратах". Дубильные вещества - ОФС "Определение содержания дубильных веществ в ЛРС и препаратах". Экстрактивные вещества - ОФС "Определение содержания экстрактивных веществ в ЛРС и лекарственных растительных препаратах" (экстрагент - спирт 50%).	Эфирное масло определяют в соответствии с требованиями ОФС "Определение содержания эфирного масла в ЛРС и лекарственных растительных препаратах". Дубильные вещества - ОФС "Определение содержания дубильных веществ в ЛРС и препаратах". Экстрактивные вещества - ОФС "Определение содержания экстрактивных веществ в ЛРС и лекарственных растительных препаратов" (экстрагент - спирт 50%).	Эфирное масло методом дистилляции в течение 2 часов	Эфирное масло методом дистилляции в течение 2 часов

Из таблицы 8 видно развитие требований к сырью относительно ГФ СССР XI издания. В частности, добавлены разделы испытаний на такие показатели как: «Микробиологическая чистота», «Заражённость вредителями запасов», «Остаточные количества пестицидов», «Радионуклиды», «Тяжёлые металлы и мышьяк». Отражены также «Допустимые примеси», что безусловно повышает контроль качества ЛРС и его безопасность.

В конкретных разделах ФС происходили изменения, повышающие уровень стандартизации. Так, в разделе «Микроскопические признаки» на этапе ГФ РФ XIV издания появляются дополнительные признаки петиолярной анатомии, отсутствующие ранее в ГФ СССР XI издания, а также в ГФ РФ XIII издания [25]. Несмотря на развитие раздела «Микроскопические признаки», в современной ФС.2.5.0051 «Шалфея лекарственного листа» отсутствует описание микроскопических признаков порошка, что повышает риск фальсификации сырья в такой форме как фильтр-пакеты и прочие формы, использующие порошоканные листья шалфея [23]. Следовательно, актуально продолжение исследований в данном направлении.

В фармакопеях РФ, начиная с XIV издания, появляется раздел «Качественные реакции», отсутствующий ранее в ФС 22 «Листья шалфея» ГФ СССР XI издания [22, 25]. Однако реакция определения дубильных веществ с 10 % раствором железа (III) аммония сульфата, на наш взгляд, недостаточно селективна [25].

Эффективный экспресс метод ТСХ используется в действующей ФС в разделе: «Определение основных групп биологически активных веществ» [23]. Особенно важно, что метод ТСХ-анализа подкреплён использованием СО веществ, селективно определяющих сырьё и в ряде случаев позволяющий проводить химическую таксацию. Однако при сравнении данного раздела в ГФ РФ XIV и ГФ РФ XV изданий выявлено, что при переходе к новой редакции ГФ произошло нецелесообразное изменение ключевых параметров [22, 23]. В частности, в ФС.2.5.0051.15 (ГФ РФ XIV) предлагается использование двух СО и двух систем хроматографирования: СО лютеолин-7-глюкозида, позволяющий выявить

маркерный флавоноид в сырье ш. лекарственного, и СО цинеола как доминирующего терпена в эфирном масле [22]. Однако, в новой версии ФС.2.5.0051 (ГФ РФ XV издания) определение флавоноидов методом ТСХ и соответственно использование СО лютеолин-7-глюкозида отсутствует [23]. На наш взгляд, модернизация ФС должна усилить фактор использования подлинных веществ, достоверно содержащихся в целевом сырье, что повысит селективность определения сырья и вероятность выявления примеси [23]. Что касается ТСХ-анализа в зарубежных фармакопеях данный раздел в ФС на сырьё присутствует [23]. При этом анализируется компонентный состав эфирного масла, однако нами отмечены отличия в использовании СОов [21-23,131]. Так, в Европейской и Белорусской фармакопеях предлагается использование помимо СО цинеола дополнительного монотерпена – туйона [21, 131]. Флавоноидный комплекс в зарубежных фармакопеях не стандартизируется [21, 131].

Нами отмечено также положительное изменение начиная с ГФ РФ XIV издания в разделе «Числовые показатели», где добавлен ранее отсутствующий показатель «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте» с нормированием не более 3,0 %, что повышает требования к минеральным примесям и, следовательно, к качеству сырья в целом [22, 23].

Важным аспектом исследования являлось сравнение раздела количественного определения [22, 23]. В советской фармакопее ГФ СССР XI издания описывается: «В листьях ш. лекарственного количественно контролировалось содержание только эфирного масла 1-м и 2-м методами» [25]. В фармакопеях РФ, начиная с ГФ РФ XIII издания: «Добавлены показатели содержания дубильных веществ и экстрактивных веществ» [22, 23]. Определение дубильных веществ в листьях ш. лекарственного в целом оправдано, так как данная группа БАС обуславливает противовоспалительный и бактериостатический эффект настоя из листьев [53, 116]. Что касается экстрактивных веществ, данный показатель не позволяет оценить индивидуальное сырьё и мало информативен [23]. На наш взгляд, в целях совершенствования стандартизации листьев ш. лекарственного необходимо заменить данный метод количественным

определением флавоноидов и дитерпеновых соединений, трактуемых как биологически активные группы наряду с эфирным маслом и дубильными веществами [40, 68].

Также необходимо отметить, что основной группой БАС долгое время считалось эфирное масло листьев ш. лекарственного, по содержанию которого данное сырье стандартизуются со времен ГФ СССР XI издания [25]. По последним исследованиям противовоспалительную и антимикробную активность ш. лекарственного связывают с содержанием дитерпеновых кислот (карнозоловой и ее производных) [40, 122, 129, 161]. По содержанию этих соединений предлагается стандартизовать сырье ш. лекарственного [41]. Профессором И.Н. Зилфикаровым разработана методика количественного определения дитерпеновых кислот в листьях ш. лекарственного [41], используемая нами в ходе экспериментальных исследований

## Выводы к главе 1

1. Выявлены разночтения в наименованиях таксонов видов рода *Salvia* L., в том числе, произрастающих на территории Среднего Поволжья России, и выполнена их унификация в соответствии с современной системой классификации.
2. Установлено, что морфолого-анатомическое строение листа изучено для всех исследованных видов рода *Salvia* L. достаточно глубоко; однако в ФС на листья ш. лекарственного отсутствуют разделы, посвящённые микроскопическому анализу порошка листьев, несмотря на наличие на рынке ЛРС в форме фильтр-пакетов, а также измельчённой и порошкообразной травы, используемой для получения экстрактов ш. лекарственного.
3. Установлены межвидовые различия во флавоноидных профилях представителей рода *Salvia* L., в частности в наличии и отсутствии преобладающих флавоноидов (цинарозида и рутина). Отмечено исключение из ФС «Листья шалфея лекарственного» качественного методом ТСХ-анализа с использованием стандартного образца цинарозида, а также отсутствие количественной методики содержания флавоноидов.
4. Выявлены межвидовые разночтения в эфиромасличных профилях видов рода *Salvia* L., включая доминирование 1,8-цинеола в эфирном масле листьев ш. лекарственного. Отмечено отсутствие в действующей фармакопее методики качественного анализа эфирного масла методом ГХ-МС для данного вида ЛРС.
5. Для всех видов рода *Salvia* L. в научной литературе описано присутствие фенилпропаноидов, в частности розмариновой кислоты, рассматриваемой как хемотаксономический маркер, однако в ФС на ш. лекарственный (ГФ РФ XV издания) отсутствуют методики её идентификации и количественного определения методами ТСХ и ВЭЖХ.

## ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объекты исследования

Объектами исследования являлись пять видов рода *Salvia* L.:

– Высушенные образцы листьев и стеблей *Salvia officinalis* L., культивируемого на территории Ботанического сада Самарского университета (г. Самара) и заготовленного в период цветения с 2023 по 2025 гг.;

– Высушенные образцы стеблей и листьев *Salvia verticillata* L., произрастающего в селе Камышла Камышлинского района Самарской области, заготовленного в диком виде в период цветения с 2023 по 2025 гг.;

– Высушенные образцы листьев и стеблей *Salvia dumetorum* Andrz. ex Besser., произрастающего в Самарской области (село Камышла Камышлинский район), заготовленного в диком виде в период цветения с 2023 по 2025 гг.;

– Высушенные образцы стеблей и листьев *Salvia nutans* L., произрастающего в Самарской области (село Кривая Лука Кинельский район), заготовленного в диком виде в период цветения с 2023 по 2025 гг.;

– Высушенные образцы стеблей и листьев *Salvia nemorosa* L., произрастающего в Самарской области (село Кривая Лука Кинельский район), заготовленного в диком виде в период цветения с 2023 по 2025 гг.;

– Опытные образцы извлечений на растворителях различной полярности (водных и водно-спиртовых, хлороформных, гексановых, ацетоновых) из листьев, стеблей и травы пяти видов рода *Salvia* L.;

– Опытные образцы эфирного масла, полученных методом дистилляции по Клевенджеру, из листьев пяти видов рода *Salvia* L.;

– Образцы эфирного масла, полученные методом Клевенджера, из листьев пяти видов рода *Salvia* L.;

– Промышленные образцы препаратов, используемых для сравнения: капсулы 100 мг «Итраконазол» (ООО «Формула-ФР», Россия, серия: 60823), тербинафин («Тербикс» спрей для наружного применения 1%, АО «Алтайвитамины», Россия, Алтайский край, г. Бийск, серия: 60523), клотримазол

(«Кандид» раствор для наружного применения 1%, ООО «Гленмарк Импэкс», г. Москва, серия 60822).

- СО карнозоловой кислоты (степень чистоты > 95 %) (приложения 3).
- СО веществ: рутин (степень чистоты > 95%), цинарозид (степень чистоты > 96%), лютеолин (степень чистоты > 95%), розмариновая кислота (степень чистоты > 95%), атегинин (степень чистоты > 95%), кверцетин (степень чистоты > 96%), β-ситостерин (степень чистоты > 95%) и олеаноловая кислота (степень чистоты > 97%), предоставленные НОЦ «Фармация» и кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России;

В таблице 9 представлены основные оборудование и материалы, используемые в ходе экспериментов.

Таблица 9 – Основные оборудование и материалы, применяемые в диссертационном исследовании

№ п/п	Тип прибора	Марка, модель, страна
1	Весы аналитические	Сартогосм ЛВ 210-А, Россия
2	Весы лабораторные электронные	Сартогосм SE224-С+, Россия
3	Спектрофотометр	ОКБ Спектр «СФ-2000», Россия
4	Спектрометры: • для <sup>1</sup> Н-ЯМР спектроскопии (399,78 МГц) • для <sup>13</sup> С-ЯМР спектроскопии (100,52 МГц)	JNM-ECX 400, Япония
5	Хромато-масс-спектрометр жидкостной	Expec L-Chrom MS WR, Китай
6	Облучатель УФ	Петролазер, ТСХ-254/365, Россия
7	Аквадистиллятор	АЭ-14-Я-ФП-01, Россия
8	Шкаф сушильный	2В-151, Россия
9	Ротационный испаритель	Labtex ИР-1ЛТ, Россия
10	Пластины для ТСХ	Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ, Россия
11	Лабораторная посуда по ГОСТ 25336-82	ПАО Химлаборприбор и др. (стаканы, колбы, цилиндры и пр.), Россия
12	Фильтры обеззоленные	МЕЛИОР XXI «Красная лента» «Синяя лента» (ТУ 2642-001-68085491-2011), Россия
13	Фильтровальная бумага для хроматографии	FN-11 и FN-15, Россия

14	Газовый хроматограф с масс-спектрометрическим детектором	МАЭСТРО 7820 (хроматограф), Россия Agilent 5975 (детектор), США Agilent (колонка), США
15	Высокоэффективный жидкостной хроматограф	«Милихром-6» (НПАО «Научприбор»), Россия
16	ИК-Фурье спектрометр	«ФСМ 2201», Россия
17	Микроскоп световой	«Motic DM-1802», Россия
18	Микроскопы световые стереоскопические	«Motic DM - 39C - N9GO – A»; Россия
19	Микроскоп поляризационный	«ПЛМ 213», Россия
20	Весы технические	ВСМ-1, ВСМ-5, ВСМ-20, ВСМ-100, Россия
21	Световой микроскоп (кратность увеличения: 40x, 100x, 400x)	Zeiss Primo Star, Германия
22	Набор сит (1, 2, 3, 5 мм)	Химприбор, Россия
23	Микротом ротационный	НМ 325, Thermo Fisher Scientific, США
24	Деионизатор	«Водолей-М», Россия

В ходе исследования использовались реактивы и сорбенты, основные из которых представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Основные реактивы и сорбенты, используемые в ходе диссертационного исследования

№ п/п	Наименование	Производитель
1	Спирт этиловый 96% (х.ч.)	ООО «Гиппократ», Россия
2	Хлороформ (марки ХЧ) по ТУ 2631-066-44493179-01	АО «ЭКОС-1»
4	n-Бутанол (марки ХЧ) по ТУ 2632-021-44493179-98	АО «ЭКОС-1»
5	Кислота уксусная ледяная (марки ХЧ) по ГОСТу 61-75	АО «ЭКОС-1»
6	Силикагель КСК L 50/100 мкм, ТУ 6-09-39-23-86	ООО «Имид», Россия
7	Муравьиная кислота (марки ЧДА) по ГОСТу 5848-73.	ООО «Компонент-Реактив», Россия
8	Этилацетат (марки ХЧ) по ГОСТ 22300-76	ООО «Компонент-Реактив», Россия
9	Гексан (марки ХЧ) СТП ТУ КОМП 2-557-13	ООО «Компонент-Реактив», Россия
10	Серная кислота (марки ОСЧ) по ГОСТ 14262-78	ООО «База № 1 Химреактивов», Россия
11	Ацетонитрил (для ВЭЖХ) по ТУ КОМП 3-074-06	ООО «Компонент-Реактив», Россия

12	Хлористоводородная кислота (марки ХЧ) по ГОСТу 3118-77	ООО «База № 1 Химреактивов», Россия
13	Ацетон (марки ХЧ) по ТУ 2633-018-44493179-98	АО «Экос-1», Россия
14	Сульфаниловая кислота (ЧДА) ГОСТ 5821-78:	АО «ЛенРеактив», Россия
15	Фосфорно-молибденовая кислота (ТУ 6-09-3540-78)	ООО «База № 1 Химреактивов», Россия
16	Фосфорно-вольфрамовая кислота по СТО 26279726-ФВК-2017	АО «ЛенРеактив», Россия
17	Алюминий хлорид (марки ХЧ) ТУ КОМП 2-191-10	АО «Купавнареактив», Россия
18	Глицерин (марки ХЧ) по ГОСТ 6259-75	«ЭЗХП Химзавод», Россия
19	Анилин серноокислый по ГОСТу 5818-78	ООО НПО «РЕАГЕНТ», Россия
20	Судан III по ГОСТ Р 57029-2016	ООО «База № 1 Химреактивов», Россия
21	Аммиак (ХЧ) по ГОСТ 3760-79	ООО «Химпром-М», Россия
22	Калий марганцовоокислый по ТУ 2642-001-33813273-97	АО «НПИП» «Уралхиминвест», Россия

Реактив ДСК готовили в соответствии раздела «Реактив» ГФ СССР X издания [24] Остальные реактивы для анализов, в том числе вода ионизированная, готовили в соответствии с требованиями ОФС.1.3.0001 «Реактивы. Индикаторы» ГФ РФ XV издания [23].

Статистическая обработка велась в соответствии требованиям ГФ РФ XV издания [23]

Используемое основное программное обеспечение:

- Программы для работы со спектрофотометром СФ 2000;
- Программы для работы со световыми микроскопами: Motic Images Plus 2.0 ML;
- Пакет Microsoft Office 2021 и другие.

## 2.2. Методы морфолого-анатомического анализа

Морфолого-анатомические диагностические признаки сырья изучались методом микроскопирования. В процессе исследования мы руководствовались ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ ЛРС и ЛС

растительного происхождения», а также Общей фармакопейной статьёй ОФС.1.5.1.0002 «Травы» [23].

Микротомирование образцов проводили на микротоме «Thermo Fisher Scientific» HM 325. Толщина срезов варьировалась от 20 до 45 мкм. Исследования проводили с использованием микроскопов с возможностью оцифровки результатов эксперимента. Микроскопия велась в проходящем и отраженном свете на микроскопах марки Motic DM 39, «Motic DM-1802», «ПЛМ-213».

### **2.3. Методы титриметрического анализа**

Для сравнительного количественного определения содержания дубильных веществ в стеблях и листьях пяти видах рода *Salvia* L. использовали первый метод ОФС.1.5.3.0008 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» [23].

### **2.4. Хроматографические методы анализа**

#### **2.4.1. Тонкослойная хроматография**

Пластины «Sorbfil» ПТСХ-АФ-А-УФ использовались для определения основных групп БАС. На линию старта капилляром наносили от 2 мкл до 10 мкл анализируемых растворов и растворов СО с интервалом 1 см [23, 55, 56].

Пластины помещали в хроматографическую камеру, насыщенную парами определенной системы растворителей.

Состав систем:

- *n*-бутанол : ледяная уксусная кислота : вода очищенная (4:1:2);
- хлороформ : этиловый спирт : вода очищенная (25:18:2);
- этилацетат : муравьиная кислота безводная : вода очищенная (14:3:3)
- хлороформ : вода очищенная (9:1);
- хлороформ : вода очищенная (19:1).

После этого пластины обрабатывались:

1. 3% раствором  $\text{AlCl}_3$  в спирте 96 % и раствором ДСК в насыщенном растворе натрия карбоната. Хроматограмма просматривалась в видимом свете, и после обработки раствором  $\text{AlCl}_3$  снова оценивалась в УФ-свете при длин волн 254 и 365 нм [23];
2. 20% раствором  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Пластины нагревали при 105 °С. После чего детекцию хроматограммы осуществляли в видимом и УФ-свете при длинах волн 254 и 365 нм [23];
3. 10% раствором фосфорно-молибденовой кислоты при нагревании. После чего хроматограмма оценивалась в видимом и УФ-свете при длинах волн 254 и 365 нм [23];
4. 10% раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты. После чего хроматограмма просматривалась в видимом и УФ-свете при длинах волн 254 и 365 нм [23].

#### **2.4.2. Жидкостная адсорбционная хроматография (колоночная хроматография)**

Процесс выделения индивидуальных соединений из листовой массы ш. дубравного проводили путем колоночной хроматографии. В качестве сорбента применяли силикагель марки КСК L с зернением 50-100 мкм. Система элюирования включала использование гексана, хлороформа и этилового спирта, а также их бинарных смесей (гексан-хлороформ и спирт-хлороформ) в варьируемых пропорциях. Сбор элюатов осуществляли фракциями по 200 мл с последующим концентрированием на роторном испарителе. В результате было получено свыше 60 фракций. Очистку и выделение веществ проводили с помощью рехроматографии и перекристаллизации [31, 55, 94].

#### **2.4.3. Высокоэффективная жидкостная хроматография**

Для качественной идентификации и количественного определения фенольных соединений использовали метод ВЭЖХ в листьях исследуемых видов рода *Salvia* L. Приготовление водно-спиртовых извлечений проводили согласно ГФ

РФ XV издания ФС 2.5.0051 «Шалфея лекарственного листа» с использованием 70% спирта этилового. Экстракцию проводили на кипящей водяной бане в течение 30 минут при соотношении «сырье – экстрагент» 1:30 [23]. Для проведения эксперимента методом ВЭЖХ использовали ацетонитрил и воду ионизированную. Остальные реактивы имели степень чистоты «х. ч.».

Определение аналитов выполняли методом обращённо-фазовой ВЭЖХ в режиме градиента. Для исследований применяли микроколоночный хроматограф «Милихром-6» (НПАО «Научприбор»), оснащенный стальной колонкой «КАХ-6-80-4» (параметры: 2 мм x 80 мм; сорбент 5 мкм). В качестве подвижной фазы использовали систему, состоящую из 1% водного раствора уксусной кислоты (фаза А) и ацетонитрила (фаза Б). Условия хроматографирования: скорость потока — 100 мкл/мин, объем удерживания — 2500 мкл. Спектрофотометрическая регистрация розмариновой кислоты велась при 330 нм, флавоноидных соединений — при 360 нм. Объем инжестируемой пробы составлял 2 мкл. Схема градиентного элюирования приведена в таблице 11.

Таблица 11 – Условия режима градиентного элюирования

Время, мин	ПФА, %	ПФБ, %
0-5	90	10
5-20	80	20
20-25	30	70

Содержание рутина, розмариновой кислоты и цинарозида в листьях анализируемых видов рода *Salvia* L. в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{H * m_0 * V * V_2 * 100 * 100 * P}{H_0 * m * V_0 * V_1 * (100 - W) * 100} = \frac{H * m_0 * 30 * V_2 * 100 * P}{H_0 * m * 25 * V_1 * (100 - W)}$$

где  $H$  – среднее значение высоты пика рутина, или розмариновой кислоты, или цинарозида испытуемого раствора, вычисленное из хроматограмм раствора испытуемого образца;

$H_0$  – среднее значение высоты пика раствора СО рутина, или СО розмариновой кислоты, или СО цинарозида вычисленное из хроматограмм раствора СО рутина, или СО розмариновой кислоты, или СО цинарозида;

$V$  – объем извлечения, мл;

$V_0$  – объем раствора СО рутина, или СО розмариновой кислоты, или СО цинарозида, мл;

$V_1$  – объем вводимой пробы раствора СО рутина, или СО розмариновой кислоты, или СО цинарозида, мкл;

$V_2$  – объем вводимой пробы раствора испытуемого образца, мкл;

$m$  – масса сырья, г;

$m_0$  – масса СО рутина, или СО розмариновой кислоты, или СО цинарозида, г;

$W$  – потеря в массе при высушивании сырья, %;

$P$  – содержание рутина, или розмариновой кислоты, или цинарозида в фармакопейном СО рутина, или СО розмариновой кислоты, или СО цинарозида, %.

#### 2.4.4. Газовая хромато-масс-спектрометрия

Идентификацию химических компонентов в эфирных маслах представителей рода *Salvia* L., выделенных методом дистилляции по Клевенджеру, проводили с помощью ГХ-МС анализа. Исследования выполнялись на газовом хроматографе «МАЭСТРО 7820», сопряженным с масс-спектрометрическим детектором Agilent 5975 и системой автоматического ввода проб. В кварцевой капиллярной колонке Agilent HP5ms осуществлялось фракционирование веществ. В роли НФ выступал состав 5%-дифенил-95%-диметилсилоксан (производства Agilent, США).

Условия выполнения хроматографирования [23]:

- гелий в качестве газа-носителя со скоростью 1 мл/мин;
- температурами: испарителя равной 280 °С; источника ионов равной 150°С; квадруполя равной 230 °С; переходной камеры – 280°С;
- объем вводимой пробы – 1 мкл с делением потока.

Компоненты эфирных масел из листьев некоторых видов рода *Salvia* L. идентифицировали по рассчитанным линейным индексам удерживания и сопоставляли полученные масс-спектры с базой данных «NIST 2.0», а также со сведениями из специальной литературы. В итоговый перечень включали только те соединения, вероятность идентификации которых по библиотечным данным превышала 90% [23].

Количественное содержание веществ определяли способом внутренней нормализации по площадям пиков на хроматограмме, полученной по полному ионному току. Для обеспечения достоверности результатов каждый образец анализировали в трехкратной повторности.

## **2.5. Методы спектрального анализа**

### **2.5.1. Методы спектрофотометрического анализа**

#### *Определение суммы флавоноидов*

Для количественного определения флавоноидов из листьев и стеблей исследуемых видов рода *Salvia* L. получали водно-спиртовые извлечения различной концентрации с использованием 40%, 70% и 96% спирта этилового. Экстракцию проводили на кипящей водяной бане в течение 60 минут при соотношении «сырье – экстрагент» 1:30. Аликвоту 1 мл переносили в мерную колбу на 25 мл доводили до метки 96 спиртом этиловым. Количественное определение суммы флавоноидов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии на приборе СФ-2000 (Россия) в пересчете на СО цинарозида в соответствии с ОФС.1.2.1.1.0003. «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» ГФ РФ XV издания [23]. Валидационную оценку 30 образцов в 11 повторностях проводили в соответствии с ОФС 1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания [23].

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на цинарозид в сухом сырье в процентах(X) вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 2 \cdot 100}{A_0 \cdot m_x \cdot 100 \cdot 25 \cdot 1 \cdot (100 - W)} \cdot 100\%,$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

$A_0$  – оптическая плотность раствора СО цинарозида Б;

$m_x$  – навеска сырья, г;

$m_0$  – навеска СО цинарозида, г;

$W$  – влажность сырья, %.

#### *Определение суммы дитерпенов*

Определение дитерпеновых соединений проводили по методике профессора И.Н. Зилфикарова [39, 41].

Навеску растительного сырья около 2 г (точная навеска) помещали в колбу вместимостью 100 мл, заливали 30 мл ацетона / спирта этилового 96%, соединяли с обратным холодильником и экстрагировали при температуре кипения растворителя в течение 30 мин. Полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр в колбу сборник, навеску сырья экстрагировали повторно в 30 мл ацетона. Профильтрованное ацетоновое извлечение упаривали досуха, остаток обрабатывали 10 мл 5% аммиачного раствора. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр. С целью избежать потери определяемых веществ процедуру повторяли еще раз. К фильтрату прибавляли при перемешивании 20 мл разведенной соляной кислоты. Выпавший осадок на фильтре Шотта с диаметром пор 16 мкм промывали 10 мл воды. Затем осадок количественно с помощью спирта этилового 96% переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили объем раствора до метки. Далее 5 мл полученного раствора переносили в мерную колбу на 50 мл, доводили спиртом этиловым 96% до метки и на спектрофотометре измеряли оптическую плотность при длине волны 285 нм [39, 41].

Содержание суммы дитерпенов в пересчете на карнозоловую кислоту рассчитывали по формуле [39, 41]:

$$X = \frac{A_x \cdot V_x}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot m_x \cdot l};$$

где  $A_x$  – оптическая плотность раствора;

$V_x$  – объем раствора, мл;

$E_{1\text{ см}}^{1\%}$  – удельный коэффициент поглощения СО карнозоловой кислоты при 285 нм равный 40.92;

$m_x$  – масса сырья, г;

$l$  – толщина слоя кюветы, см.

#### *Определение суммы тритерпеноидов*

Для сравнительного определения тритерпеноидов в стеблях и листьях исследуемых видов рода *Salvia* L. нами была разработана спектрофотометрическая методика определения тритерпеновых соединений после взаимодействия с концентрированной серной кислотой [97, 99].

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл спирта этилового 96 %. 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 60 минут. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий объём экстрагента до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр с красной лентой и остужают в течение 30 минут.

*Испытуемый раствор А.* 5 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объёмом спирта этилового 96 % до метки. Аликвоту 1 мл упаривают в фарфоровой чашке на водяной бане до сухого остатка. К сухому остатку добавляют 5 мл концентрированной серной кислоты и переносят в мерную колбу на 25 мл. Данную процедуру повторяют 3 раза. Объём раствора доводят концентрированной серной кислотой до метки.

*Раствор сравнения А.* Концентрированный раствор серной кислоты.

*Раствор СО олеаноловой кислоты В.* Около 0,02 г (точная навеска) СО олеаноловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объём раствора спиртом этиловым 96 % до метки. 1 мл аликвоты помещают в

мерную колбу на 25 мл, доводят объем раствора спиртом этиловым 96 % до метки. 2 мл аликвоты мл упаривают в фарфоровой чашке на водяной бане до сухого остатка. К сухому остатку добавляют 5 мл концентрированной серной кислоты и переносят в мерную колбу на 25 мл. Данную процедуру повторяют 3 раза. Объем раствора доводят концентрированной серной кислотой до метки.

*Раствором сравнения СО олеаноловой кислоты В* является концентрированная серная кислота.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО олеаноловой кислоты В в первые 10 мин на спектрофотометре при длине волны 308 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения А.

Содержание суммы дитерпенов в пересчёте на карнозоловую кислоту в сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 100}{A_0 \cdot m_x \cdot 50 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 5 \cdot (100 - W)} \cdot 100\%,$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

$A_0$  – оптическая плотность раствора СО олеаноловой кислоты В;

$m_x$  – навеска сырья, г;

$m_0$  – навеска СО олеаноловой кислоты, г;

$W$  – влажность сырья, %.

При отсутствии СО олеаноловой кислоты допускается вычислять расчет содержания суммы тритерпеноидов по экспериментально установленному значению удельного показателя поглощения:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100}{m_x \cdot 609,75 \cdot 5 \cdot (100 - W)}$$

где  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А;

609,75 – удельный показатель поглощения комплекса олеаноловой кислоты В при взаимодействии с концентрированной серной кислотой при длине волны 308 нм ( $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ );

$m_x$  – точная навеска сырья, г;

$W$  – влажность сырья, %.

### 2.5.2. ЯМР-спектроскопия

Идентификацию выделенных в ходе колоночной хроматографии веществ проводили на приборе «JNM-ECX 400» для установления  $^1\text{H}$ -ЯМР (399,78 МГц) и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (100,52 МГц) спектров.

### 2.5.3. Масс-спектрометрия

Молекулярную массу выделяемых соединений определяли с применением системы жидкостной хромато-масс-спектрометрии «EXPEC L-Chrom MS WR». Прибор оснащен тройным квадруполом и источником электрораспылительной ионизации (ESI). Процесс накопления данных осуществлялся в режиме полного MS2-сканирования (в положительной и отрицательной полярностях) в диапазоне от 100 до 900 m/z. Установленные параметры детектора: напряжение на конусе пробоотбора — 50 В, время выдержки — 0,225 мс. В качестве газа-носителя применялся азот. Режим распыления ионов поддерживался при напряжении 4,5 кВ (ESI-) и 5,1 кВ (ESI+). Характеристики десольватации: температура газа 250 °С, скорость потока 10 л/мин. Поток распыляющего газа составлял 1,5 л/мин, напряжение пластины-заслонки — 400 В.

### 2.5.4. ИК-спектроскопия

Установление функционально-структурных фрагментов соединения проводили с помощью ИК-Фурье спектрометре «ФСМ 2201» [100].

## 2.6. Частные методы количественного определения группы БАС

### Метод количественного определения эфирного масла

Для сравнительного количественного анализа содержания эфирного масла в листьях пяти видах рода *Salvia* L., а также для дальнейшего качественного анализа компонентов эфирного масла методом ГХ-МС получали эфирное масло методом Клевенджера [23].

100 г сырья помещали колбу с объёмом на 2 л, заливали 1000 мл дистиллированной водой, присоединяли к аппарату Клевенджера. Перегоняли со

скоростью 60-65 кап/мин. Через 5 мин после окончания дистилляции определяли по градуировке приёмника объём эфирного масла [23].

Содержание эфирного масла в пересчёте на абсолютно сухое сырьё вычисляли по формуле:

$$X = \frac{V * 100 * 100}{a * (100 - W)}$$

где  $V$  – объём раствора эфирного масла, мл;

$a$  – навеска лекарственного растительного сырья, г;

$W$  – влажность лекарственного растительного сырья.

## 2.7. Технологические методы

Лабораторный образец «Шалфея лекарственного листьев настойка» получали из листьев ш. лекарственного на спирте этиловом 40% методом модифицированной дробной мацерации [23, 83]. Сиропы на основах сахарозы, фруктозы и сорбита и настой из листьев ш. лекарственного приготавливали в соответствии требованиям ГФ РФ XV издания [23, 69].

## 2.8. Микробиологические методы

Микробиологические исследования образцов проводили методом двойных серийных разведений в соответствии Российскими рекомендациями. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2025-01: «Противогрибковую и антибактериальную активности изучали в отношении клинических постковидных штаммов: *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *S. brevicaulis*, *M. circinelloides* *Candida albicans*, *Candida auris*, *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*. Препаратами сравнения являлись спирт этиловый в различных концентрациях (40%, 70%, 96%), итраконазол (0,5% раствор ДМСО) (в 250 мл ДМСО растворяли капсулу 100 мг «Итраконазол», ООО «Формула-ФР», Россия, серия: 60823), тербинафин («Тербикс» спрей для наружного применения 1%, АО

«Алтайвитамины», Россия, Алтайский край, г. Бийск, серия: 60523), клотримазол («Кандид» раствор для наружного применения 1%, ООО «Гленмарк Импэкс», г. Москва, серия 60822)» [93, 118]. Критерием отбора препаратов сравнения для микробиологического анализа послужила их клиническая значимость: как наружных средств (тербинафин и клотримазол), так и системных агентов, активных в отношении целевых возбудителей (тербинафин и итраконазол).

## **2.9. Статистические методы**

Статистическую обработку результатов количественного определения проводили методами вариационной статистики в соответствии с ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» [23].

## ГЛАВА 3. СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *SALVIA* L.

### 3.1. Сравнительная анатомия петиолярных признаков некоторых представителей рода *Salvia* L.

Большое разнообразие видов рода *Salvia* L. и сложность их диагностики приводит к необходимости модернизировать процесс определения видовой специфичности фармакопейного вида. Известно, что возможности петиолярной анатомии позволяют в ряде случаев быстро и точно отличать в том числе близкородственные таксоны [166].

Необходимо отметить, что для листьев ш. лекарственного в современной ГФ РФ XV издания в разделе «Микроскопические признаки» внедрены показатели петиолярных признаков как дополнительных в диагностике цельного сырья (рис. 1) [23, 28, 59, 67, 89].



Рисунок 1 – Петиолярная анатомия листьев шалфея лекарственного ФС.2.5.0051 «Шалфея лекарственного листа» [23]

Однако близкое родство других видов рода *Salvia* L. приводит к высокой степени сходства, повышающей вероятность случайной подмеси нефармакопейного вида шалфея. Анализ научной периодической литературы не выявил данных сравнения петиолярных признаков близкородственных видов рода *Salvia* L. Кроме того, анализируя текст методики гистологических признаков в ФС.2.5.0051, выявлено, что при определении черешка не описаны особенности его очертания на поперечном сечении, несмотря на приведённую иллюстрацию (рис.

1). Данный признак является основным в петиолярной диагностике таксонов [38, 48, 90].

Согласно мнению большинства исследователей, неоднородность анатомии черешков по его длине должна учитываться при исследовании черешка в трёх частях: базальной, медиальной и апикальной [38, 48, 90]. В разделе «Микроскопические признаки» ФС.2.5.0051 при определении гистологи черешков не описаны особенности поперечных сечений в разных частях черешка [23].

При анализе морфологии черешков листьев ш. лекарственного выявлено, что черешок, как правило, длиной от 1 см до 4 см. Апикальные и базальные части черешков в общей фитомассе листьев крайне малы и не превышают 5%. Данный факт снижает вероятность встречаемости апикальных и базальных частей в аналитической пробе (рис. 2 В, Г). Ввиду чего принято решение проводить сравнительную диагностику петиолярных признаков различных видов *Salvia* L. только в медиальной части черешка (рис. 2 А).

В результате эксперимента проведено видовое сравнение поперечных сечений черешков листьев пяти видов рода *Salvia* L., произрастающих на территории Самарской области. Выявлены системные диагностические признаки, объединяющие все изучаемые виды рода *Salvia*.

Выявлено различие в размерах сечений медиальных срезов черешков, что с учетом близкой экологии произрастания (время и место заготовки) можно считать дополнительным признаком в диагностике таксонов рода *Salvia* L. Наименьший размер поперечного сечения черешка по ширине и высоте у ш. дубравного составляет 2 мм и 1 мм соответственно. Наибольший размер поперечного сечения черешка у ш. поникающего 3,5 мм в самой широкой части и до 4 мм в высоту. Фармакопейный вид имеет среднее значение ширины 1,2 мм и высоты 1,5 мм.

Очертания поперечных сечений имеют сходство. Так, в основном очертания черешков округлой формы с рёбрами «ушками», выступающими с верхней (адаксиальной) части среза и имеющие характерные каплевидные очертания. Отличительной чертой в поперечных срезах черешка является волнисто-ребристый

характер поверхности с нижней (абаксиальной) стороны у ш. кустарникового и дубравного. Однако этот признак не устойчивый и слабо выражен.

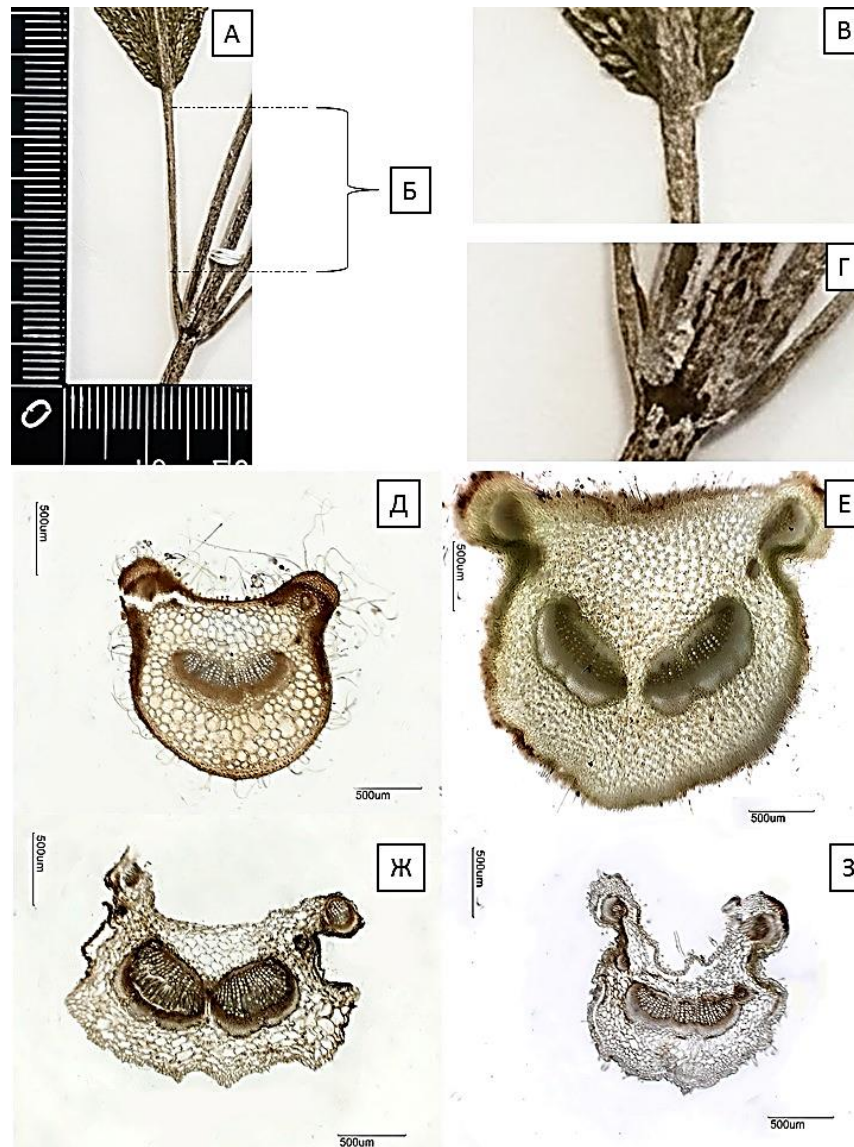


Рисунок 2 – Сравнение анатомии медиальной части черешков ш. лекарственного и примесных видов: А – черешковый фрагмент гербария ш. лекарственного, Б – выделение фрагмента медиальной части черешка, В – фрагмент апикальной части черешка, Г – фрагмент базальной части черешка.

Поперечный срез медиальной части черешка:

Д – ш. лекарственного, Е – ш. поникающего, Ж – ш. кустарникового,  
З – ш. дубравного.

По характеру опушения все сравниваемые виды схожи между собой, что снижает диагностичность трихом в случае близкородственных примесей. На

поверхности листьев сравниваемых шалфеев диагностированы трихомы четырёх типов: простые одноклеточные волоски (папиллы), простые многоклеточные волоски с бородавчатой кутикулой, железистые волоски с округлой головкой и многоклеточной ножкой (различных размеров), железки с крупной округлой головкой из восьми клеток.

Однако, степень опушения черешков сравниваемых видов отличается (рис. 2Д-З). Наибольшая степень опушения у ш. лекарственного и поникающего. У этих видов трихомы различных типов покрывают всю поверхность черешков. Опушение черешка ш. кустарникового менее выражено (рис. 2Ж) и зачастую приурочено к базальной части черешка.

Армирование черешков сравниваемых видов принципиальным не является. Арматурные ткани у данных шалфеев представлены уголкового колленхимой, локализованной по рёбрам-ушкам, а также с абаксиальной части (до 2 рядов колленхимных клеток). Помимо колленхимы черешки армированы волокнами склеренхимы, локализованными группами во флаэжной части проводящих пучков. При этом степень развитости склеренхимных волокон и тип локализации не отличают виды друг от друга.

Важным диагностическим признаком является особенность проводящей системы черешка. Согласно ФС.2.5.0051 «*Проводящая система представлена 3 закрытыми коллатеральными пучками*» [23]. Однако анализ проводящих пучков черешка листа ш. лекарственного показал (рис. 2), что центральный крупный пучок по длине медиальной части неоднороден и ближе к основанию черешка разделён на два отдельных пучка. Кроме того, в основной паренхиме, между центральным пучком и пучками рёбер-ушек периодически визуализируются вторичные мелкие пучки до 50 мкм в диаметре, что связано, вероятно, с особенностью иннервации.

Сравнение 5 видов показало, что совокупность проводящих пучков, а также образование вторичной иннервации характерно для всех сравниваемых шалфеев и не может трактоваться как узкоспецифический признак только для *Salvia officinalis*. Однако эта особенность является общим признаком рода *Salvia* L., что важно на первичном этапе диагностики таксона.

Полученные данные позволили переработать и дополнить раздел «Микроскопические признаки» для проекта ФС «Шалфея лекарственного листа».

### **3.2. Сравнительное морфолого-анатомическое исследование стеблевой части побега некоторых представителей рода *Salvia* L.**

Традиционно в качестве ЛРС ш. лекарственного используются листья [23, 26]. Однако на сегодняшний день на рынке имеется ассортимент средств на основе экстрактов из травы ш. лекарственного [74, 115]. Данный факт объясняется стремлением к снижению издержек при упрощении заготовки и переработки сырья, а также значительно большей фитомассой травы относительно листовой части. Присутствие стеблевой части в ЛРС, регламентировано разделом ФС «*Другие части растения (цветки и кусочки стеблей)*», где нормирование не более 13 % значительно выше чем у других видов растений с аналогичным типом сырья, и составляет значительную часть ЛРС. Однако НД в особенности фармакопейного сырья не учитывает ряд параметров характерных для травы данного растения [23].

Необходимо отметить, что на территории РФ произрастает значительное число видов рода *Salvia* L., отличающихся по фитохимическому составу, а, следовательно, по фармакологической активности. Вследствие чего стебли данных видов могут рассматриваться в качестве недопустимой примеси. Возникает необходимость включить особенности морфолого-анатомических признаков стеблей ш. лекарственного в проект ФС «Шалфея лекарственного листа».

Одним из аспектов стандартизации является подтверждение подлинности сырья по анализу морфолого-анатомических признаков.

На первичном этапе нами проанализированы очертания стеблей на малом увеличении. Известно, что для Яснотковых, к которым относится шалфей, характерно четырёхгранное строения стебля. Сравнение видов показало, что четырёхгранная форма поперечных сечений стеблей, сравниваемых видов является общеродовым признаком *Salvia* L. и не даёт селективной диагностики.

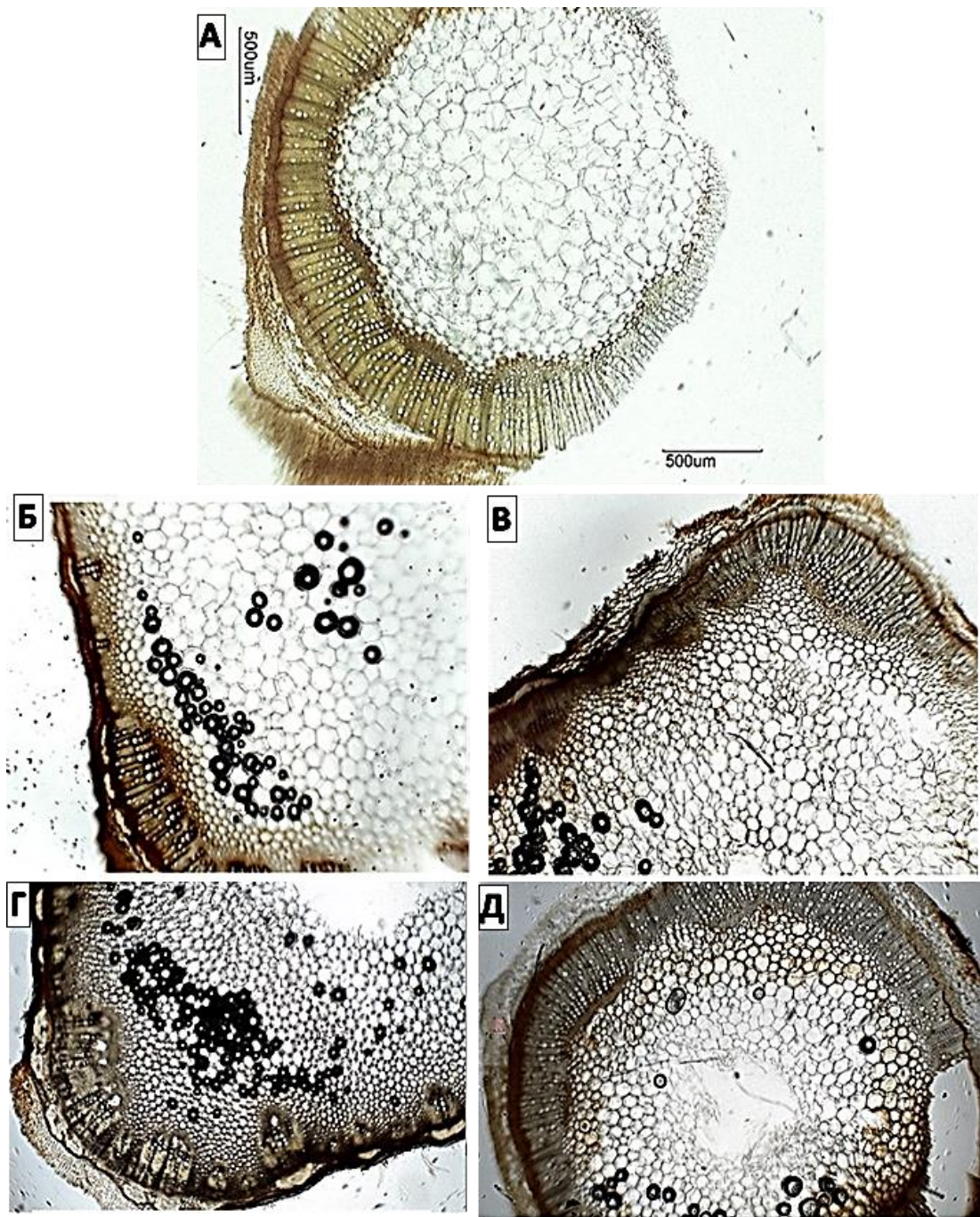


Рисунок 3 – Сравнение анатомии поперечных сечений стеблей видов рода *Salvia*

L.: А – ш. лекарственного; Б – ш. мутовчатого; В – ш. дубравного;

Г – ш. поникающего; Д – ш. кустарникового

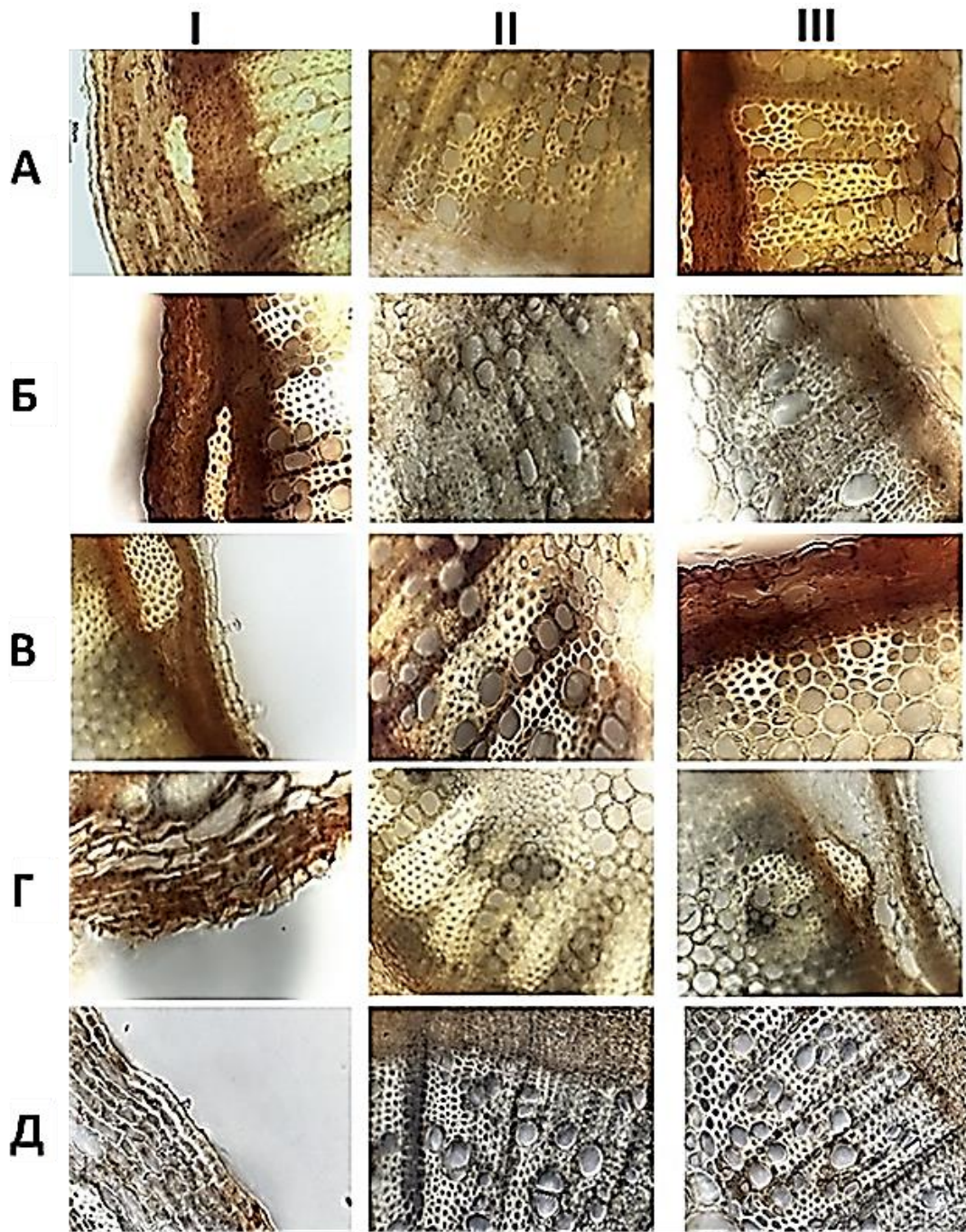


Рисунок 4 – Сравнение гистологических признаков поперечных сечений стеблей видов рода *Salvia* L.: А – ш. лекарственного; Б – ш. дубравного; В – ш. мутовчатого; Г – ш. поникающего; Д – ш. кустарникового  
 Обозначение: I – эпидермальная поверхность; II – ксилема в углах стебля; III – ксилема по граням стебля

Клетки эпидермиса на поперечном сечении имеют прямоугольную форму. Клеточные стенки тонкие, целлюлозные. Кутикула слабо выражена. Протопласт аморфный, слабо пигментированный светло-желтым цветом.

Совокупность трихом у сравниваемых видов составлена из кроющих многоклеточных волосков и желёзок, характерных для фармакопейного вида – ш. лекарственного.

Сравнение показало, что эпидермальные поверхности, включая особенности опушения, не несут узко-селективной диагностики изученных видов рода *Salvia* L.

По рёбрам стеблей переходного типа локализована уголковая колленхима. Она выражена практически у всех видов. Исключением является ш. мутовчатый, у которого она тонкостенная и слабо заметна на поперечных сечениях. Развитость уголковой колленхимы в рёбрах стеблей играет диагностическое значение для выявления примесного вида – ш. мутовчатого.

Сравнение склеренхимных волокон показало, что развитость твёрдого луба, число клеток в группе их размеры и характер утолщенности позволяют выделить из основной массы шалфеев ш. поникающий, имеющий наибольшую степень склерификации.

Ксилема первичных пучков в рёбрах стебля выражена сильнее, чем по граням. При этом сравнение показывает отличие в скоплении волокон либриформа, а также выраженности сердцевинных лучей и их пигментации. Наибольшая степень склерификации ксилемной области отмечается у ш. поникающего, что может служить дополнительным признаком в диагностике его как примеси к ш. лекарственному.

Все стебли сравниваемых видов переходного типа, однако выраженность вторичных пучков по граням стеблей выявлена только у ш. поникающего и мутовчатого, что позволяет выявлять их как примесные виды в целевом сырье.

Полученные данные использованы для разработки раздела «Микроскопические признаки» в ФС.2.5.0051 «Шалфея лекарственного листа».

### 3.3. Морфолого-анатомический анализ порошков листьев и стеблей

#### *Salvia officinalis L.*

Согласно ФС.2.5.0051 «Шалфея лекарственного листа» [23] в разделе «Микроскопические признаки» отсутствует описание порошка листьев шалфея лекарственного. Наличие раздела «Измельчённое сырьё» не может служить заменой описанию порошка, так как степень измельчения в случае классического сырья (листа) согласно нормативам 5 мм, а для порошков степень измельчения может быть менее 0,5 мм. В периодической литературе не обнаружено исследований, направленных на изучение микроскопических признаков порошкованных листьев шалфея. Однако известно, что на фармацевтическом рынке РФ, а также в ассортименте БАД к пище имеются фильтр-пакеты и фиточаи с высокой степенью измельчённости компонентов. Данный факт повышает риск фальсификации в условиях отсутствия адекватных разделов в соответствующей ФС.

Кроме того, присутствие стеблевой части в сырье, регламентированное разделом ФС «*Другие части растения (цветки и кусочки стеблей). Не более 13 %.*», в порошкованном сырье может быть намеренно увеличено (фальсифицировано). Это невозможно выявить при фармакопейном анализе, в виду сложности диагностики и отсутствия описания порошка листьев и стеблевой части.

В рамках диссертационного исследования нами проводились морфолого-анатомические испытания модельных смесей порошков с достоверно известным образцом ш. лекарственного. В качестве образцов были отделены листья, стебли от основной побеговой части (рис. 5).

Аналізу подвергались отдельно измельченные порошки листьев ш. лекарственного, его стебли и порошок травы, включающей листья и стебли, так и цветущую часть растения. При этом изучались порошки с двумя степенями измельчения: 0,5 мм и 0,25 мм, достигаемые просеиванием образцов через лабораторные сита с соответствующей пористостью.



Рисунок 5 – Модельные образцы сырьевых частей ш. лекарственного:

А – листья ш. лекарственного, Б – стебли ш. лекарственного,

В – трава ш. лекарственного

На микроснимках видно, что порошки (0,5 и 0,25 мм) представляют собой фрагменты листовых пластинок зелёного или буровато-зелёного цвета с элементами фрагментов черешков (рис. 6). При кратности увеличения  $\times 40$  на поверхности кусочков листовых пластинок диагностируются желёзки по глянцевым головкам желтого цвета (рис. 6 В,Г). Кроме того, видны простые кроющие волоски, обильно расположенные на эпидермальных фрагментах листовых пластинок под лупой ( $\times 10$ ) и в стереомикроскопе ( $\times 40$ ).



Рисунок 6 – Микрофотоснимки порошоканного сырья листьев ш.  
 лекарственного: А – порошок листьев с диаметром частиц 0,5 мм ( $\times 20$ ),  
 Б - порошок листьев с диаметром частиц 0,25 мм ( $\times 20$ ), В, Г – фрагмент листа с  
 эфиромасличной желёзкой в порошке листьев с диаметром частиц 0,5 мм ( $\times 40$ ), Д  
 - порошок листьев с диаметром частиц 0,25 мм ( $\times 40$ )

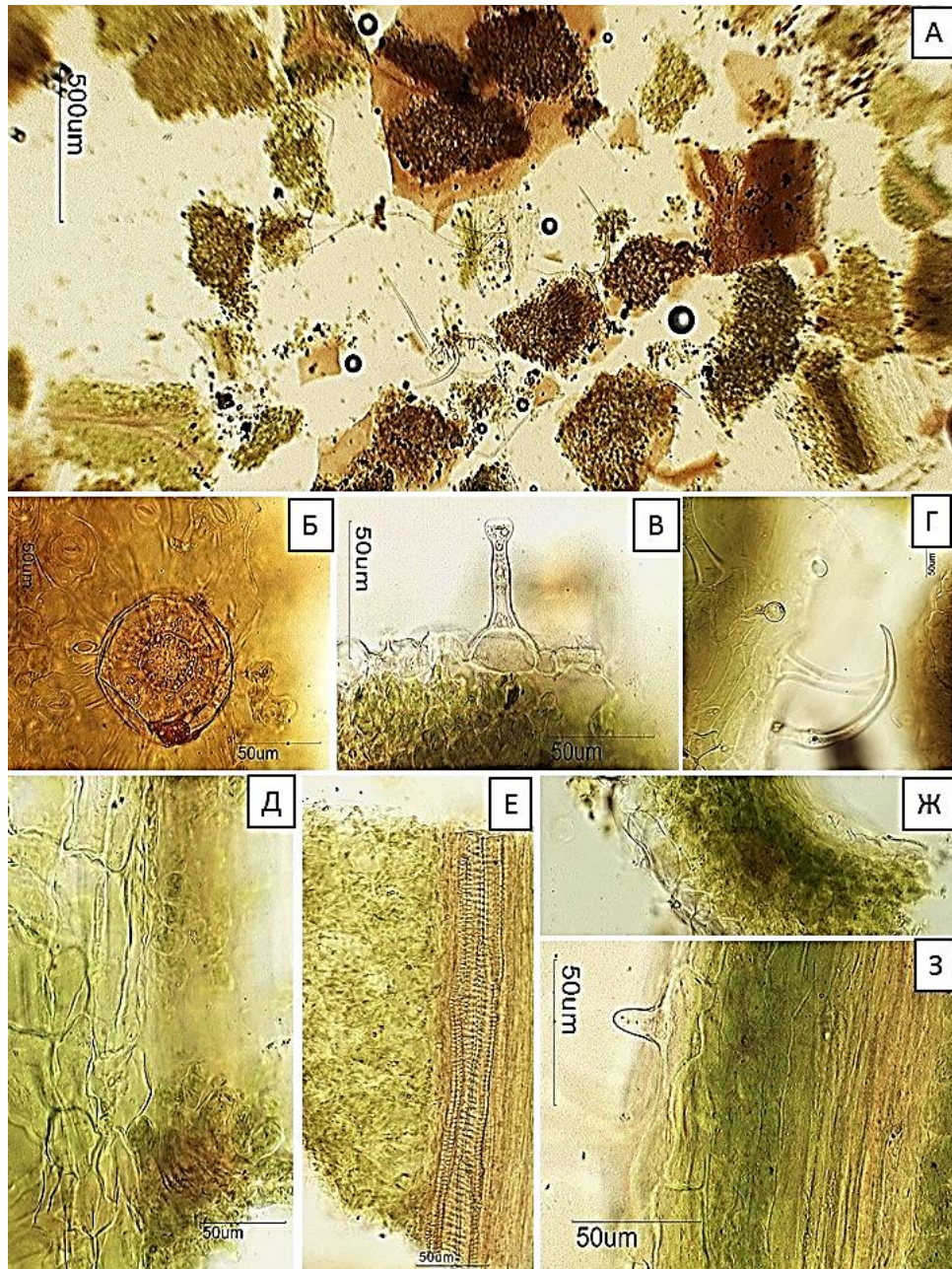


Рисунок 7 – Анатомио-гистологические признаки в порошке листьев ш. лекарственного: А – общий вид порошка при щелочной пробоподготовке ( $\times 40$ ), Б – фрагмент желёзки и эпидермиса листа с диацидными устьичными аппаратами ( $\times 400$ ), В – фрагмент листа с головчатым волоском ( $\times 400$ ), Г – фрагмент листа с простыми кроющими трихомами и мелкими головчатыми волосками ( $\times 400$ ), Д – фрагмент эпидермиса листа над жилкой ( $\times 400$ ), Е – жилка на просвете фрагмента листовой пластинки ( $\times 400$ ), Ж – фрагмент листовой пластинки на поперечном сечении ( $\times 400$ ), З – фрагмент края листовой пластинки с одноклеточным волоском ( $\times 400$ )

В процессе гистологического анализа порошка согласно ОФС ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ ЛРС и ЛС растительного происхождения» выявлены основные диагностические элементы, характерные для цельного сырья (рис. 7).

При этом отмечено, что встречаемость диагностических признаков и сложность их обнаружения неодинакова. Для выявления значимости признака производился расчёт встречаемости в процентах. При этом высчитывали долю элемента (признака) от общего числа всех элементов в пробе микропрепарата ( $18 \times 18$  или  $3,24 \text{ см}^2$ ). За 100% принимали все частицы пробы.

В частности, наиболее устойчивым и встречаемым признаком (40%) в порошке являются простые кроющие трихомы одно- и многоклеточные (рис. 7 Ж, З). Также достаточно устойчивыми являются желёзки, структура которых легко диагностируется в порошках. Однако их встречаемость в аналитической пробе значительно меньше и достигает 10,0 %.

Наиболее сложно диагностируемыми оказались головчатые волоски и устьичные аппараты, сложность диагностики которых заключается в слабо окрашенных элементах структуры. Встречаемость головчатых трихом достигает 6,0%, устьичных аппаратов – 4,5%.

Кроме того, в пробах порошка с частотой до 20,5% диагностируются фрагменты листовых пластинок с ксилемными элементами жилок, составленных из спиральных сосудов (рис. 7Е). Реже (19,5%) встречаются фрагменты поперечных сечений пластинки (рис. 7 Ж), на которых видна дорзовентральная симметрия листа. Необходимо отметить, что данные признаки не включены в раздел «Микроскопические признаки» действующей фармакопейной статьи на листья ш. лекарственного, и описаны нами впервые.

Анализ модельных порошков (0,5 мм, 0,25 мм) стеблевой части ш. лекарственного позволил выявить ряд признаков, ранее не трактовавшихся в ФС «Шалфея лекарственного листа». Гистологические признаки порошков стеблей приведены на рисунке 8.

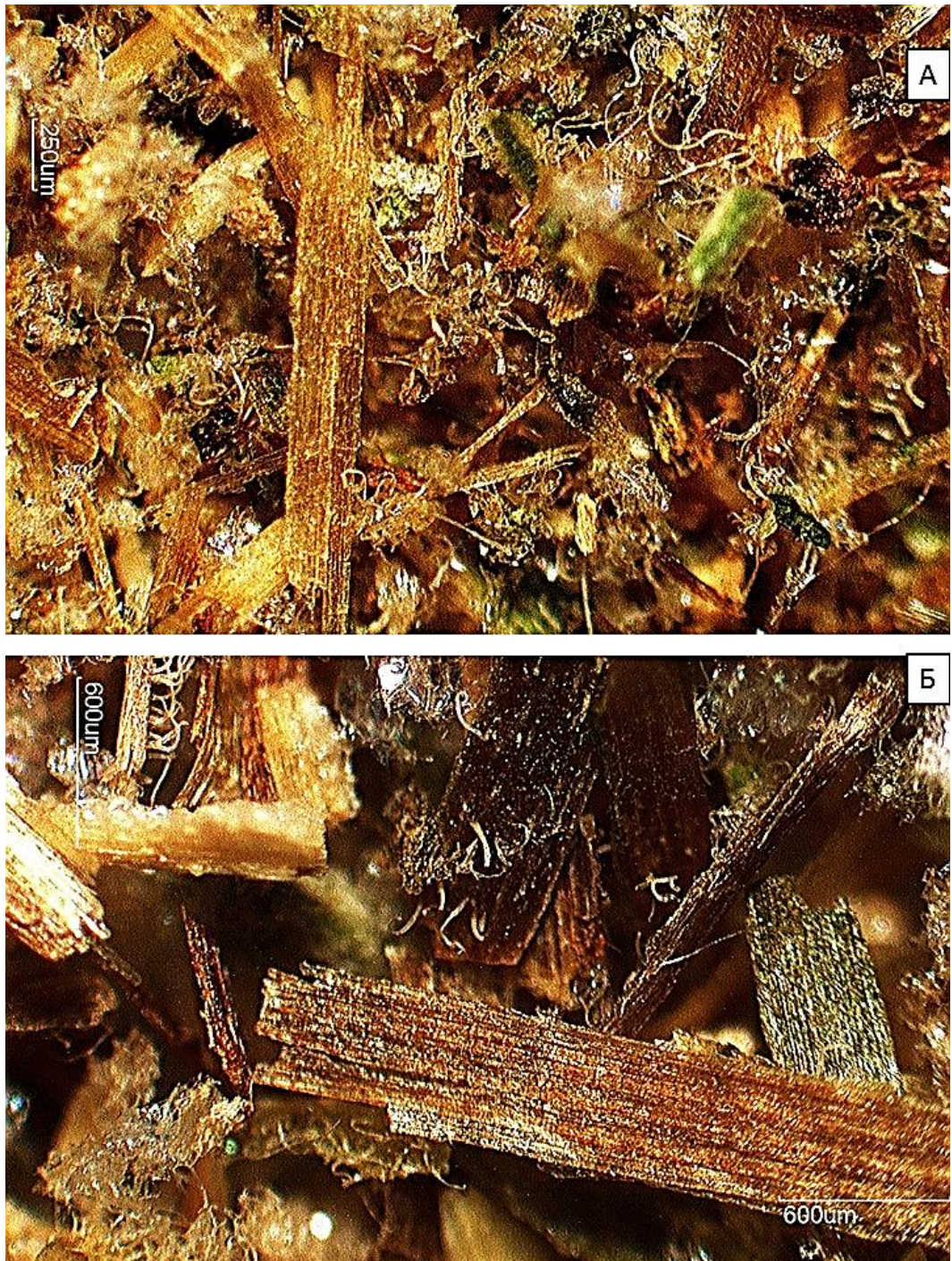


Рисунок 8 – Порошок стеблей ш. лекарственного: А – порошок листьев с диаметром частиц 0,25 мм ( $\times 40$ ), Б – порошок листьев с диаметром частиц 0,5 мм ( $\times 40$ )

Порошок стеблей представляет собой вытянутые фрагменты стеблевых элементов бурого, светло-желтого, реже буро-зелёного цвета. В целом порошок стеблей значительно светлее порошка листьев и имеет общий желто-коричневый цвет (рис. 8). В виду того, что стеблевая часть не является целевой и

регламентируется показателем – не более 13%, – цветность порошка может быть первичным признаком наличия избыточного количества примеси стеблей.

При внешнем макроанализе под лупой (x10) или с использованием стереомикроскопа (x40) видны также фрагменты эпидермиса стебля с трихомами, составляющими опушение (рис. 8 Б).

При подробном изучении микропрепаратов порошка видны фрагменты стеблей, представленные совокупностью сосудистых элементов и склеренхимных волокон как на продольном, так и на поперечном сечении (рис. 9 А, Б, В). Вероятность встречаемости сосудистых элементов и склеренхимных волокон в порошке достаточно высока и достигает порядка 50,0 %, однако в большей степени эти фрагменты продольного сечения.

Особенностью порошка стеблевой части шалфея является наличие фрагментов парехимных клеток сердцевины стебля (рис. 9 Е). Встречаемость в образце крупных пустотелых клеток с тонкими лигнифицированными оболочками – достигает 10,0 %.

Кроме того, у частиц паренхимы коровой части стебля отмечается встречаемость элементов порошка - порядка 10,0 %. Фрагменты, обычно, сложены из тонкостенных клеток с протопластами зелёно-бурого цвета, содержащих хлоропласты и аморфные элементы протопласта (рис. 9 Г).

Фрагменты эпидермальных поверхностей встречаются до 15,0 %. При этом на их поверхности помимо полигональных, слабо-вытянутых клеток эпидермы диагностируются места прикрепления кроющих трихом с бурой пигментацией мест прикрепления, а также лучисто-морщинистая кутикула на поверхности эпидермы, являющаяся дополнительным диагностическим признаком (рис. 9 Ж).

Кроющие трихомы встречаются с вероятностью до 10%, при этом могут быть одиночными фрагментами порошка, либо локализованными на фрагментах эпидермы (рис. 9 И).

Железки хорошо заметны по бурым железистым головкам с каплями эфирного мала. Они могут диагностироваться как одиночные фрагменты порошка

(рис. 9 З), реже встречаются на фрагментах эпидермиса. Вероятность встречаемости железок в пробах порошка стеблей достигает 5%.

Анализ проб порошка стеблей не выявил железистых, головчатых волосков. Однако не исключается их присутствие, но с низкой вероятностью менее 1%.

В рамках эксперимента для дополнительного контрастирования использовался поляризационный микроскоп с тёмнопольным конденсатором и  $\lambda$ -светофильтром. В результате микроскопического анализа аналитических проб порошков листьев и стеблей (0,5 мм, 0,25 мм) выявлены выраженное контрастирование механических тканей склеренхимы и проводящих элементов ксилемы, что повышает скорость их обнаружения в аналитических пробах (рис. 1-Ж, З, И, К). Кроме того, повышенный контраст позволяет быстрее обнаруживать железистые трихомы за счёт хорошо заметных железистых головок и капель эфирного масла (рис. 10 А, Б, Г, Д).

В целом поляризационный способ контрастирования повышает скорость анализа и выявления диагностических элементов порошка.

С учетом того, что в порошке листьев крайне мало ксилемных элементов и отмечается полное отсутствие грубых механических волокон, являющихся диагностическими элементами стеблевой части, поляризационная микроскопия может стать экспресс – методом диагностики и выявления излишних элементов стеблевой части в порошке листьев ш. лекарственного.

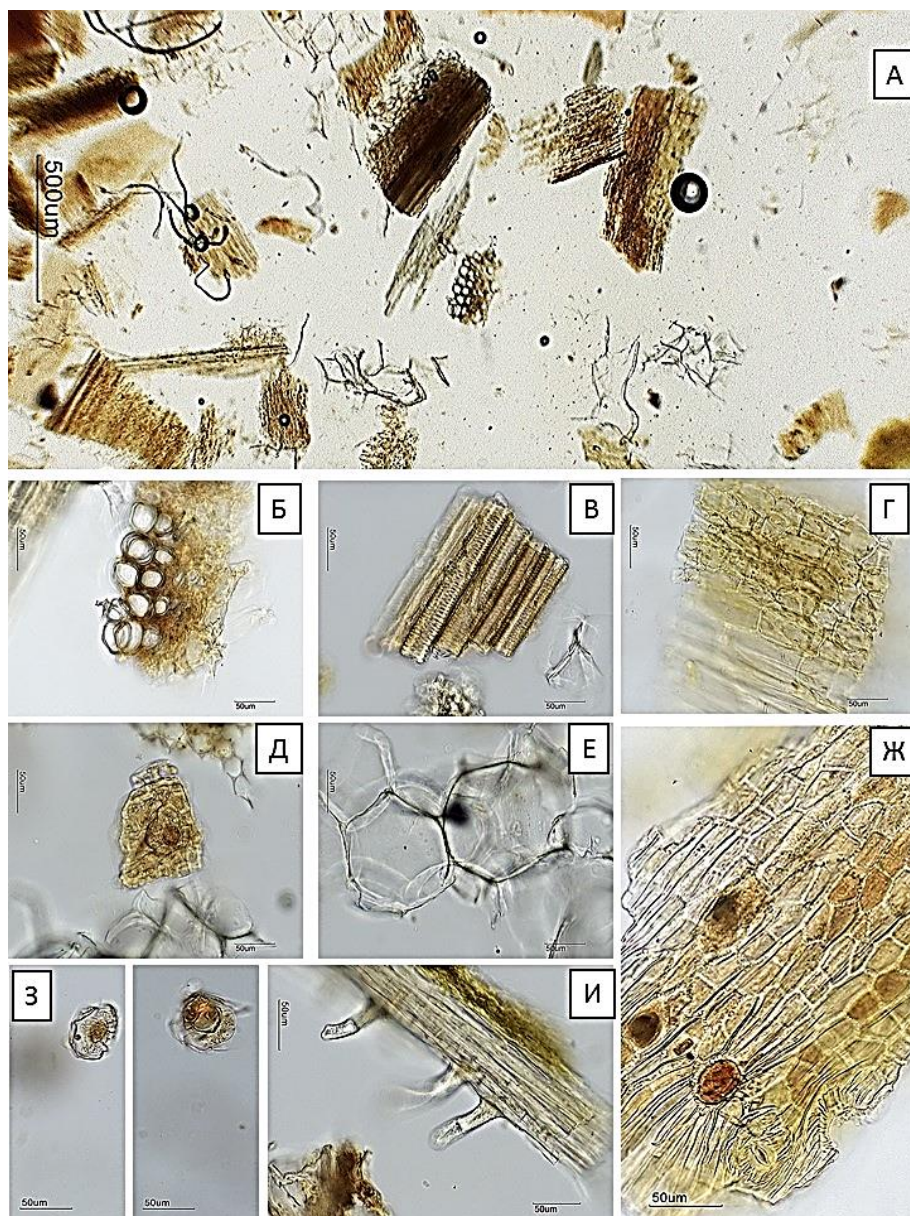


Рисунок 9 – Анатомо-гистологические признаки порошка стеблей ш. лекарственного: А – общий вид порошка стеблей ( $\times 40$ ), Б – фрагмент сосудов ксилемы на поперечном сечении ( $\times 400$ ), В – фрагмент сосудистых элементов сетчатого и спирального типа ( $\times 400$ ), Г – фрагмент основной хлорофиллоносной паренхимы стебля ( $\times 400$ ), Д – фрагмент эпидермиса стебля с железистой трихомой ( $\times 400$ ), Е – фрагмент клеток основной паренхимы сердцевины стебля ( $\times 400$ ), Ж – фрагмент эпидермиса стебля с лучистой кутикулой и устьичными аппаратами ( $\times 400$ ), З – одиночные желёзки в порошке стеблей ( $\times 400$ ), И – фрагмент стебля с простыми кроющимися трихомами ( $\times 400$ )

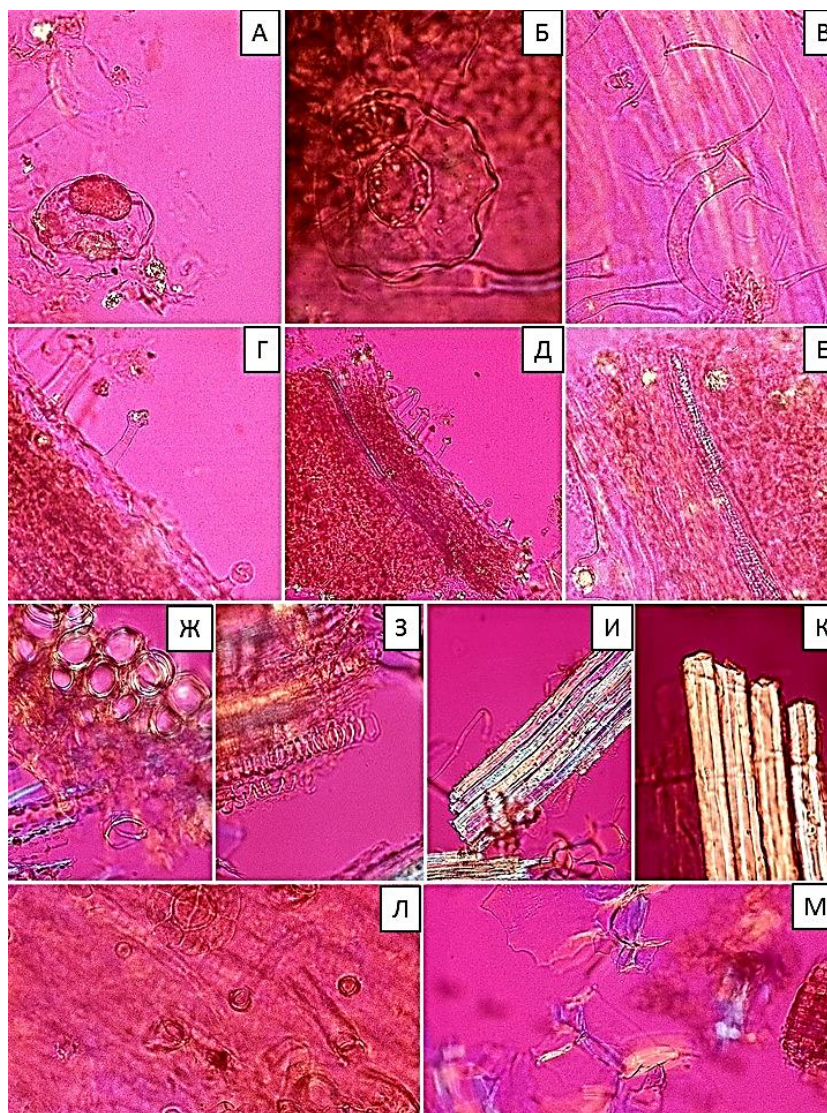


Рисунок 10 – Диагностика гистологических элементов порошка листьев и стеблей ш. лекарственного при контрастировании в поляризационном микроскопе с  $\lambda$ -светофильтром: А – желёзка с каплей эфирного масла на поверхности эпидермиса листа, Б – головка и ножка желёзки на поверхности эпидермиса листа, В – простые кроющие трихомы на поверхности эпидермиса листа, Г – головчатые трихомы на поверхности эпидермиса листа, Д – контрастирование жилки в мезофилле листа, Е – спиральные сосуды жилки в мезофилле листа, Ж – фрагмент сосудистые элементы ксилемы в поперечном сечении порошок стеблей, З – сосудистые элементы порошка стеблей, И – волокна либриформа порошка стеблей, К – фрагмент лубяных волокон порошка стеблей, Л – фрагмент эпидермы стебля в порошке стеблей, М – фрагменты клеток сердцевинны в порошке стеблей

Проведённые морфолого-анатомические исследования порошков листьев и стеблей ш. лекарственного показали необходимость введения отдельного раздела «Микроскопические признаки порошка» в фармакопейную статью.

Исследование подтвердило важность выделения отдельных характеристик для листьев и стеблей шалфея. Отсутствие конкретных критериев для идентификации стеблей в порошке создает потенциальную угрозу завышения содержания примесей в готовом продукте.

Применение поляризационных методов повышает точность и скорость диагностики гистологических элементов в порошке. Особенно эффективен этот подход для выявления ксилемных элементов и механических структур склеренхимы, характерных для примесной стеблевой части.

Анализ порошка листьев шалфея показал высокую значимость простых кроющих трихом и желёзок как стабильных диагностических признаков, необходимых для включения в раздел анализа «Микроскопические признаки порошка».

Таким образом, разработка раздела «Микроскопические признаки порошка» листьев ш. лекарственного позволит повысить качество контроля фармацевтической продукции и снизить вероятность фальсификаций. Эффективность предложенного подхода подтверждает целесообразность внедрения современных методик микроскопического анализа, включая использование поляризационной микроскопии, для улучшения стандартов производства и проверки качества растительных препаратов.

### Выводы к главе 3

1. Исследование отличительных признаков стеблей различных видов *Salvia* L. показало, что диагностически значимыми для ш. лекарственного являются особенности строения стволовой древесины, распределения уголковой колленхимы, вторичные пучки и степени клеточной склерификации.
2. Обнаружены специфические признаки, характерные для примесных видов. К таким признакам следует отнести:
  - Угловатая колленхима выражена почти у всех видов, кроме ш. мутовчатого, у которого она тонкая и малозаметная, что важно для обнаружения примеси ш. мутовчатого.
  - Склеренхима наиболее развита у ш. поникающего, что способствует определению его как примеси.
  - Количество и толщина склеренхимных волокон позволяют дополнительно выделить ш. поникающий среди других видов.
  - Вторичные сосудисто-проводящие пучки значительно выражены только у ш. поникающего и мутовчатого, что помогает обнаружить их как примесь в составе ш. лекарственного.
3. Анатомическое сравнение стеблей выявило общеродовые признаки (не обеспечивающие селективную диагностику). К общим для большинства видов рода *Salvia* L. можно отнести:
  - Четырёхгранная форма поперечных сечений стебля.
  - Структура клеток эпидермиса и кутикулы.
  - Характеристика общего состава трихом (простых волосков, железистых волосков и желёзок).
4. Петиолярная анатомия представляет собой эффективный инструмент диагностики близкородственных видов рода *Salvia* L. К диагностическим признакам черешков ш. лекарственного, которые целесообразно дополнить раздел «Микроскопические признаки» следует отнести:

- Размер поперечного сечения: ширина около 1,2 мм, высота примерно 1,5 мм.
  - Форма поперечного сечения: округлая форма с ребрами-ушками, выступающими сверху и имеющими характерные каплевидные очертания.
  - Особенности проводящей системы: наличие трех закрытых коллатеральных пучков, центрального крупного пучка, разделенного ближе к основанию черешка, и присутствие мелких вторичных пучков.
5. В новую редакцию раздела «Микроскопические признаки» ФС «Шалфей лекарственный листья» включено описание признаков порошка листьев, а также стеблевой части.

## ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *SALVIA* L.

На основе литературного обзора были выявлены нерешенные проблемы фитохимического состава исследуемых видов рода *Salvia* L. С целью восполнения выявленных пробелов проведено их детальное сравнительное фитохимическое исследование с применением различных аналитических методов анализа.

### 4.1. Результаты анализа содержания дубильных веществ в некоторых представителях рода *Salvia* L.

Вследствие классической трактовки дубильных веществ как одной из основных действующих групп фенольных соединений в ЛРС «Шалфея лекарственного листа» на начальном этапе сравнения выбранных видов рода *Salvia* L., проводилось определение содержания дубильных веществ.

Для выявления особенностей локализации дубильных веществ в морфологических органах, содержание данной группы фенолов оценивалось отдельно в листьях, стеблях и траве каждого сравниваемого вида. Учитывая числовой показатель «Содержание других частей этого же растения» ГФ РФ XV издания, нормирующего 13% для ш. лекарственного, в качестве образцов травы использовали модельную смесь, состоящую из 87 % листьев и 13 % стеблей.

Оценка содержания дубильных соединений проводилась согласно требованиям ОФС.1.5.3.0008 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» методом перманганатометрии. По результатам сравнительного анализа рассчитали значения содержания дубильных веществ для каждого вида (табл.12).

Таблица 12 – Сравнения содержания суммы дубильных веществ в стеблях и листьях исследуемых видов рода *Salvia* L. (%)

Наименования вида	Листья	Трава	Модельная смесь
Ш. лекарственный	7,29±0,05	2,10±0,04	6,34±0,04
Ш. дубравный	8,13±0,03	2,79±0,04	7,53±0,05

Ш. поникающий	6,07±0,04	2,30±0,05	5,51±0,05
Ш. мутовчатый	10,37±0,05	3,65±0,04	9,17±0,04
Ш. кустарниковый	10,45±0,04	2,72±0,05	9,40±0,05

По результатам определения дубильных веществ видна закономерность, заключающаяся в том, что содержание дубильных веществ достоверно выше именно в листовой части, чем стеблях.

При допустимом содержании стеблей в ЛРС не более 13%, количественное содержание дубильных веществ снижается на 1 %, что не критично для данной группы БАС.

Выявленная закономерность подтверждает целесообразность применения только листовой части ш. лекарственного и нежелательное присутствие в ЛРС избыточного количества стеблей, снижающих качество сырья.

#### **4.2. Результаты сравнительного хроматографического анализа некоторых представителей рода *Salvia* L.**

В процессе скринингового изучения химического состава рода *Salvia* L. методом ТСХ сравнивали извлечения как листовой, так и стеблевой части растения. С учётом степени полярности анализируемых компонентов, исследовали извлечения на различных концентрациях спирта этилового 40%, 70%, 96%, а также на хлороформе марки «х.ч.».

Хлороформные экстракты из листьев исследуемых видов рода *Salvia* L. хроматографически разделяли в смеси растворителей – хлороформ: спирт этиловый в соотношении (рис. 11).

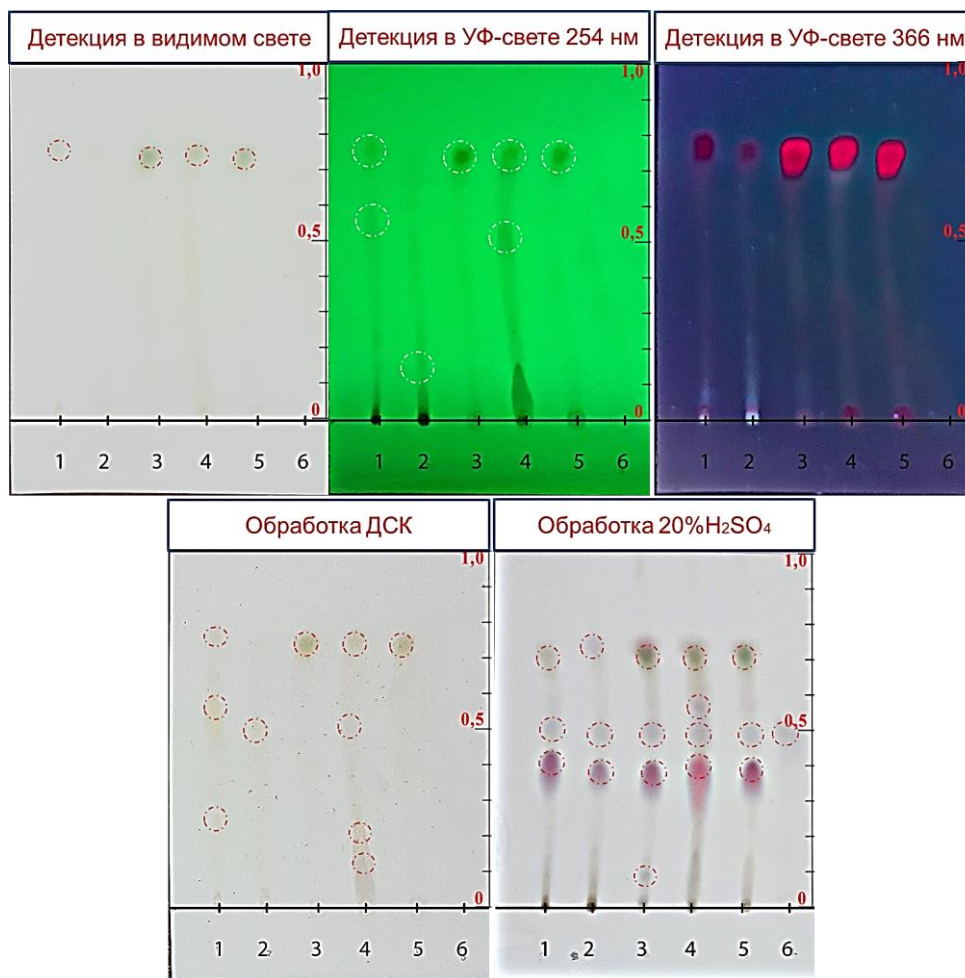


Рисунок 11 – Сравнительная ТСХ хлороформных извлечений из листьев видов рода *Salvia* L. в системе растворителей хлороформ : спирт этиловый (19 : 1)

Обозначения: 1 – ш. дубравного; 2 – ш. поникающего; 3 – ш. мутовчатого; 4 – ш. лекарственного; 5 – ш. кустарникового; 6 – СО β-ситостерина

Анализ хроматографических профилей разделения хлороформных извлечений из листьев сравниваемых видов рода *Salvia* L. показал их высокую степень сходства (рис. 11).

Так, в хроматографических профилях у всех видов доминирует три вещества в виде пятен с  $R_f \approx 0,44$ ;  $\approx 0,50$ ;  $\approx 0,75$ , окрашивающихся в розовый и грязно-серый цвета при обработке 20% раствором серной кислоты после нагревании при температуре 100 °С. На старте пластинок при этом детектируются не разделившиеся суммы гидрофильных структур.

Сравнение с СО β-ситостерина позволило выявить его присутствие во всех изучаемых образцах ( $R_f \approx 0,52$ ) (рис.11).

Проявление хроматограмм раствором ДСК в насыщенном растворе  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  позволило выявить предположительно фенольное соединение, детектируемое на пластинках по желтой окраске пятна с  $R_f \approx 0,75$ . Данная структура люминесцирует в УФ-свете при длине волны  $\lambda = 254$  нм. Необходимо отметить, что отчётливое детектирование данной структуры отмечено во всех изученных видах, кроме ш. поникающего.

В хроматографических профилях ш. лекарственного, ш. дубравного и ш. поникающего также отмечено присутствие фенольных соединений с  $R_f \approx 0,2$  и  $0,52$ . Однако в данной системе они не делятся и детектируются в виде желтых или желто-оранжевых шлейфов. Кроме того, отличительной характеристикой хроматографического профиля ш. лекарственного является наличие зоны адсорбции с  $R_f \approx 0,55$ , которая детектируется после обработки серной кислотой и отсутствует в других сравниваемых видах.

Реакция с серной кислотой позволила проявить тритерпеноиды по яркой малиновой окраске пятен [69]. В частности, во всех образцах сравнения обнаружено вещество тритерпеноидовой природы с  $R_f \approx 0,44$ . Необходимо отметить, что тритерпеновые соединения - олеаноловая и урсоловая кислоты, ранее описаны во всех изучаемых нами видах рода *Salvia* L. [55].

Сравнение извлечений на 96% спирте этиловом из листьев пяти видов рода *Salvia* L. в системе: хлороформ : спирт этиловый (9 : 1) с СО олеаноловой кислоты подтверждает присутствие данного соединения по характерной розовой (малиновой) окраске пятна с подвижностью  $R_f \approx 0,55$  после обработки 20 % раствором серной кислотой (рис. 12).

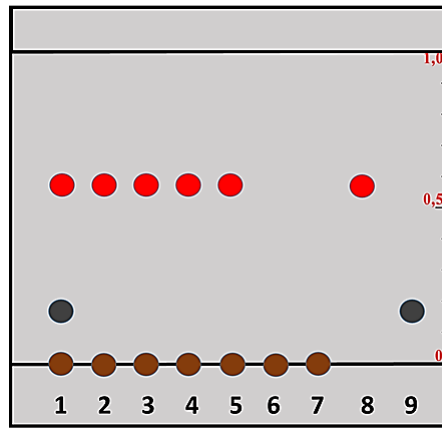


Рисунок 12 – Схема сравнения ТСХ водно-спиртовых извлечений на 96% спирте этиловом из листьев видов рода *Salvia* L. в системе растворителей хлороформ : спирт этиловый (9 : 1). Обработка 20 % раствором серной кислоты при 100 °С.

Обозначения: 1 – ш. лекарственный; 2 – ш. мутовчатый; 3 – ш. дубравный; 4 – ш. поникающий; 5 – ш. кустарниковый; 6 – СО розмариновой к-ты; 7 – СО цинарозида; 8 – СО – олеаноловой к-ты; 9 – СО карнозоловой к-ты

Сравнение с СО цинарозида и розмариновой кислоты в данной системе элюирования неэффективно в виду высокой полярности стандартов. Что касается дитерпеновых соединений, СО карнозоловой кислоты в данных условиях разделения детектируется в УФ-свете при длине волны 254 и длине волны 365 нм (слабо-фиолетовое свечение). После обработки 20% раствором серной кислоты с нагреванием при температуре 100 °С дитерпен проявляется как пятно грязно-серого цвета с  $R_f \approx 0,15$ . Карнозоловая кислота детектируется только в шалфее лекарственном [40, 121, 144, 159].

Ориентируясь на систему растворителей (этилацетат : муравьиная кислота безводная : вода (14 : 3 : 3) в разделе «Подлинность» в ФС.2.5.0051.15 «Шалфея лекарственного листа» ГФ РФ XIV издания проведено сравнение хроматографических профилей извлечений на 70% спирте этиловом из листьев и стеблей 5-ти видов рода *Salvia* L. в различных условиях детектирования (рис. 13 и 14) [35].

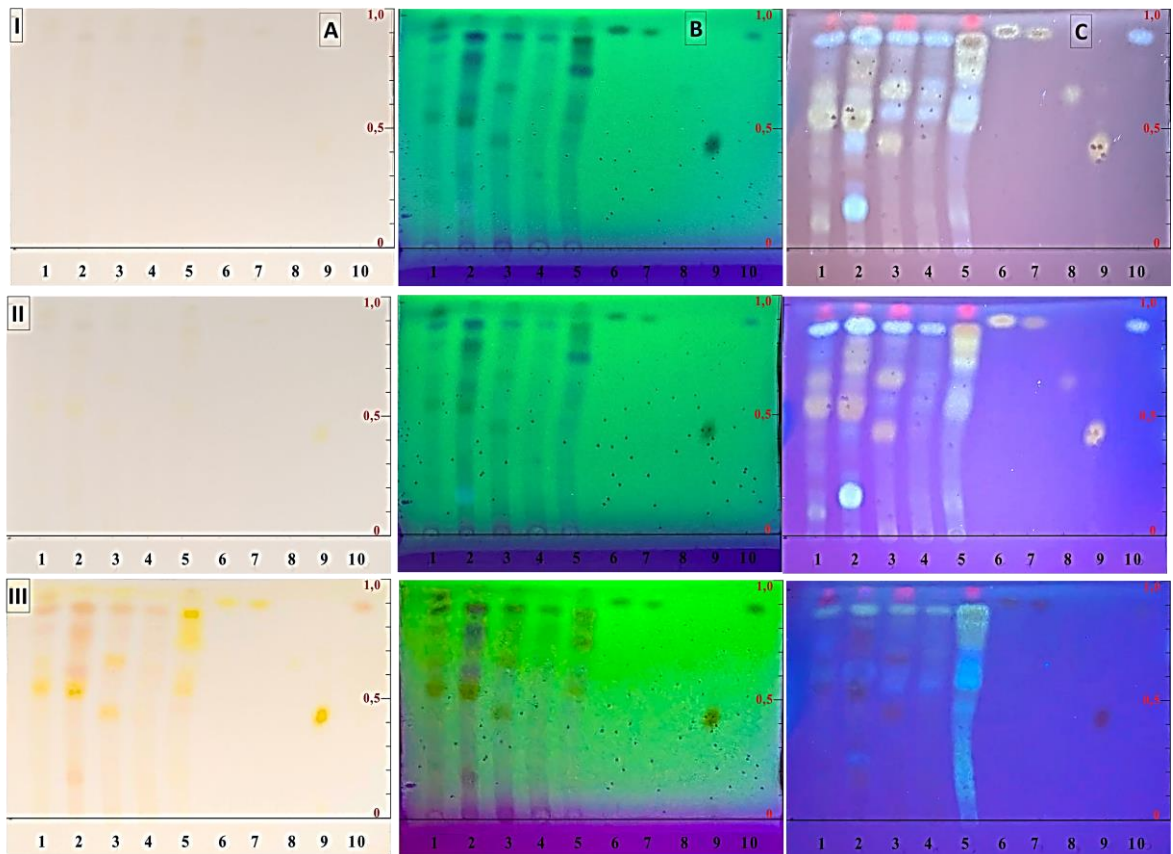


Рисунок 13 – Сравнительная ТСХ водно-спиртовых извлечений на 70% спирте этиловом из листьев: 1 – ш. лекарственного; 2 – ш. мутовчатого; 3 – ш. кустарникового; 4 – ш. дубравного; 5 – ш. поникающего; 6 – СО апигенина; 7 – СО лютеолина; 8 - СО цинарозида; 9 – СО рутина; 10 – СО розмариновой кислоты.

Обозначения: I – до обработки; II – обработка 3% спиртовым раствором  $AlCl_3$ ;

III – обработка раствором ДСК в среде насыщенного  $Na_2CO_3$

A – детектирование в видимом свете; B – детектирование в УФ-свете с  $\lambda=254$

нм; C – детектирование в УФ-свете с  $\lambda=365$  нм

Так, у всех сравниваемых видов шалфея на уровне  $R_f \approx 0,95$  обнаруживается хлорофилл в виде пятна с характерной красной люминесценцией в диапазоне возбуждения УФ-света,  $\lambda=365$  нм. Кроме того, выявлено, что розмариновая кислота, ранее описанная для всех изучаемых видов [60, 179], детектируется у всех экспериментальных образцов, кроме ш. поникающего, в зоне абсорбции на уровне  $R_f \approx 0,9$  при облучении УФ светом с  $\lambda=365$  нм в виде пятна с голубым свечением,

усиливающимся при обработке 3% спиртовым раствором  $AlCl_3$ . Необходимо отметить, что розмариновая кислота детектируется как в листьях, так и в стеблях всех видов, кроме ш. поникающего. Учитывая фармакологическую активность данной структуры, на наш взгляд, целесообразно применять розмариновую кислоту как стандартное вещество для анализа качества ЛРС «Шалфея лекарственного листа». Отсутствие визуальной детекции розмариновой кислоты в листьях и стеблях ш. поникающего может говорить о ее низком содержании и является видовой специфичностью данного таксона.

Согласно ФС.2.5.0051.15 «Шалфея лекарственного листа. *Salviae officinalis folia*» основным стандартом для подтверждения подлинности ЛРС ш. лекарственного является СО лютеолин-7-глюкозида (цинарозида) [14, 60, 179]. В целях сравнения представителей рода *Salvia* L. в отношении присутствия в них цинарозида нами использовался СО цинарозида и его агликон – СО лютеолина (рис. 13 и 14).

После обработки алюминия хлорида 3% раствором в спирте 96% было выявлено, что на уровне СО цинарозида  $R_f \approx 0,65$  в водно-спиртовых извлечениях из листьев ш. лекарственного и ш. кустарникового выявлено присутствие вещества схожего с СО цинарозида по желто-оранжевой люминесценции при облучении УФ светом с  $\lambda=365$  нм (рис. 17, ПВ). Аналогичное проявление хроматограмм водно-спиртовых извлечений из стеблей не позволило выявить достоверного присутствия цинарозида ни в одном из видов. Хроматографические пластинки после обработки алюминия хлорида 3% раствором в спирте 96% обрабатывали дополнительно щелочным раствором ДСК, после чего проявлялась желтая окраска на уровне СО цинарозида  $R_f \approx 0,65$  в хроматографических профилях у ш. мутовчатого и ш. дубравного. В извлечениях из стеблей проявления цинарозида не было отмечено ни в одном из образцов.

В настоящем эксперименте с используемой хроматографической системой растворителей, предлагаемой в ФС.2.5.0051 «Шалфея лекарственного листа» ГФ РФ XV издания, агликаны СО апигенина и СО лютеолина не делятся и детектируются на хроматограмме в виде одного пятна с  $R_f \approx 0,9$ , окрашивающегося

в ярко-желтый цвет после обработки раствором ДСК (рис. 13III A), а также люминесцирующего в УФ-свете с  $\lambda = 254$  нм фиолетовым цветом, а при  $\lambda = 365$  нм светло-желтым цветом, переходящим в ярко-оранжевую люминесценцию после обработки алюминия хлорида раствора 3% в спирте 96 % (рис. 13 II C). При этом в хроматографических профилях водно-спиртовых извлечений из листьев и стеблей всех сравниваемых видов рода *Salvia* L., кроме ш. лекарственного, апигенин и лютеолин не диагностируются. Однако ввиду неселективности разделения данных СО невозможно сделать объективный вывод о присутствии каждого из них во всех видах в данных хроматографических условиях (рис. 14).

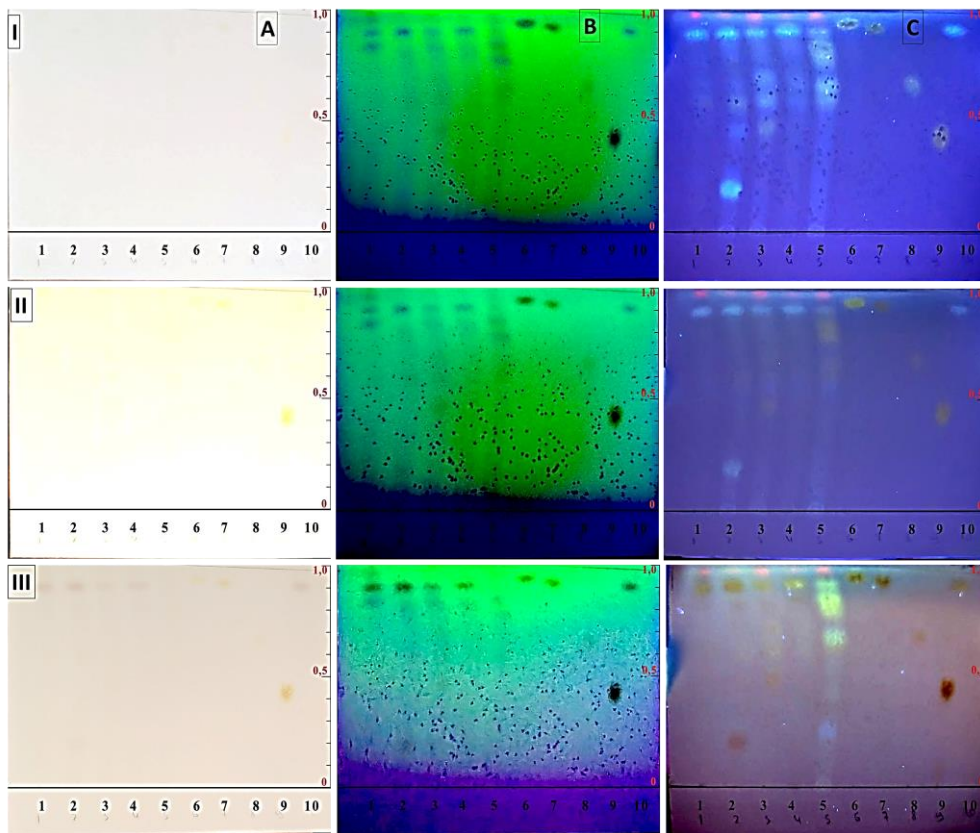


Рисунок 14 – Сравнительная ТСХ водно-спиртовых извлечений на 70% спирте этиловом из стеблей: 1 – ш. лекарственного; 2 – ш. мутовчатого; 3 – ш. кустарникового; 4 – ш. дубравного; 5 – ш. поникающего; 6 – СО апигенина; 7 – СО лютеолина; 8 - СО цинарозида; 9 – СО рутина; 10 – СО розмариновой кислоты.

Обозначения: I – до обработки; II – обработка алюминия хлорида раствором 3% в спирте 96 %; III – обработка раствором ДСК в среде насыщенного  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

*A – детектирование в видимом свете; B – детектирование в УФ-свете с длиной волны 254 нм; C – детектирование в УФ-свете с  $\lambda=365$  нм*

Согласно литературным данным в некоторых видах рода *Salvia* L., в частности ш. лекарственного [179], трактуется присутствие флавонола – рутина. Для сравнительного ТСХ-анализа присутствия рутина в выбранных нами видах рода *Salvia* L. дополнительно использовался СО рутина. В результате вещество, схожее с СО рутина, детектировано на хроматографических профилях листьев ш. лекарственного и листьев и стеблей ш. кустарникового. Оно проявляется в виде пятна на уровне  $R_f \approx 0,45$ , окрашивающегося в ярко-желтый цвет после обработки раствором ДСК, аналогично СО рутина (рис. 13 и 14). Пятно вещества люминесцирует в УФ-свете с  $\lambda = 365$  нм светло-желтым цветом, после обработки раствором  $AlCl_3$  люминесценция усиливается и приобретает ярко-оранжевый цвет, аналогично СО рутина (рис. 13 и 14).

В целом нами отмечена высокая селективность разделения химических веществ фармакопейной системой растворителей, в особенности по отношению к рутину, цинарозиду и розмариновой кислоте. На основании полученных результатов предложены изменения в разделе «Определение основных групп биологически активных веществ» ФС «Шалфея лекарственного листа», описанные в главе 5.

### **4.3. Результаты сравнительного спектрофотометрического анализа некоторых представителей рода *Salvia* L.**

Для подкрепления данных ТСХ-анализа с исследуемыми водно-спиртовыми извлечениями проводили сравнительный спектрофотометрический анализ.

#### **4.3.1. Результаты сравнительного спектрофотометрического анализа флавоноидов в листьях и стеблях некоторых представителей рода *Salvia* L.**

Анализ спектров поглощения экстрактов, полученных из надземных частей (листьев и стеблей) растений рода *Salvia* L., продемонстрировал значительную

идентичность спектральных профилей исходных извлечений в интервалах  $281\pm 2$  –  $288\pm 2$  нм и  $325\pm 2$  –  $328\pm 2$  нм (рис. 15-17) [35]. При проведении реакции комплексообразования с 3% хлоридом алюминия фиксировался батохромный сдвиг, при котором аналитический максимум окрашенного комплекса водно-спиртовых проб смещался в длинноволновую область спектра  $357\pm 2$  нм –  $419\pm 2$  нм (рис. 15-17, табл. 14). Для дифференциальных спектров всех исследуемых образцов среднее значение пика поглощения составило  $\lambda = 400$  нм (рис. 15-17). Данный показатель специфичен для гликозидов флавоновой природы, в частности для цинарозида [56]. Это обусловило выбор СО цинарозида в роли стандарта и длины волны 400 нм для количественного определения суммарного содержания флавоноидов.

Таблица 13 – Максимумы поглощения дифференциальной кривой из листьев и стеблей представителей рода *Salvia* L.

№	Вид	Экстрагент (спирт этиловый)	Максимумы поглощения дифференциальной кривой в листьях	Максимумы поглощения дифференциальной кривой в стеблях
1	Ш. лекарственный	40%	264, 276, <b>396</b>	268, <b>384</b>
2	Ш. лекарственный	70%	<b>395</b>	<b>366</b>
3	Ш. лекарственный	96%	300, <b>398</b>	229, 268, 308, <b>358, 413</b>
4	Ш. дубравный	40%	260, 277, <b>387</b>	266, <b>374</b>
5	Ш. дубравный	70%	261, 278, 292, <b>385</b>	257, 276, <b>357</b>
6	Ш. дубравный	96%	254, 304, <b>366</b>	259, 361, <b>384</b>
7	Ш. кустарниковый	40%	264, 280, 292, <b>390</b>	264, 274, 290, <b>397</b>
8	Ш. кустарниковый	70%	<b>398</b>	264, 274, 290, <b>394</b>
9	Ш. кустарниковый	96%	263, 279, 299, <b>401</b>	264, 276, 299, <b>397</b>
10	Ш. мутовчатый	40%	267, <b>387</b>	261, <b>374</b>
11	Ш. мутовчатый	70%	270, 294, <b>383</b>	262, <b>370</b>
12	Ш. мутовчатый	96%	276, 328, <b>420</b>	257, 306, <b>358</b>
13	Ш. поникающий	40%	262, 277, 298, <b>398</b>	277, <b>395</b>
14	Ш. поникающий	70%	278, <b>396</b>	266, 277, 297, <b>395</b>
15	Ш. поникающий	96%	263, 276, 299, <b>397</b>	264, 277, <b>394</b>

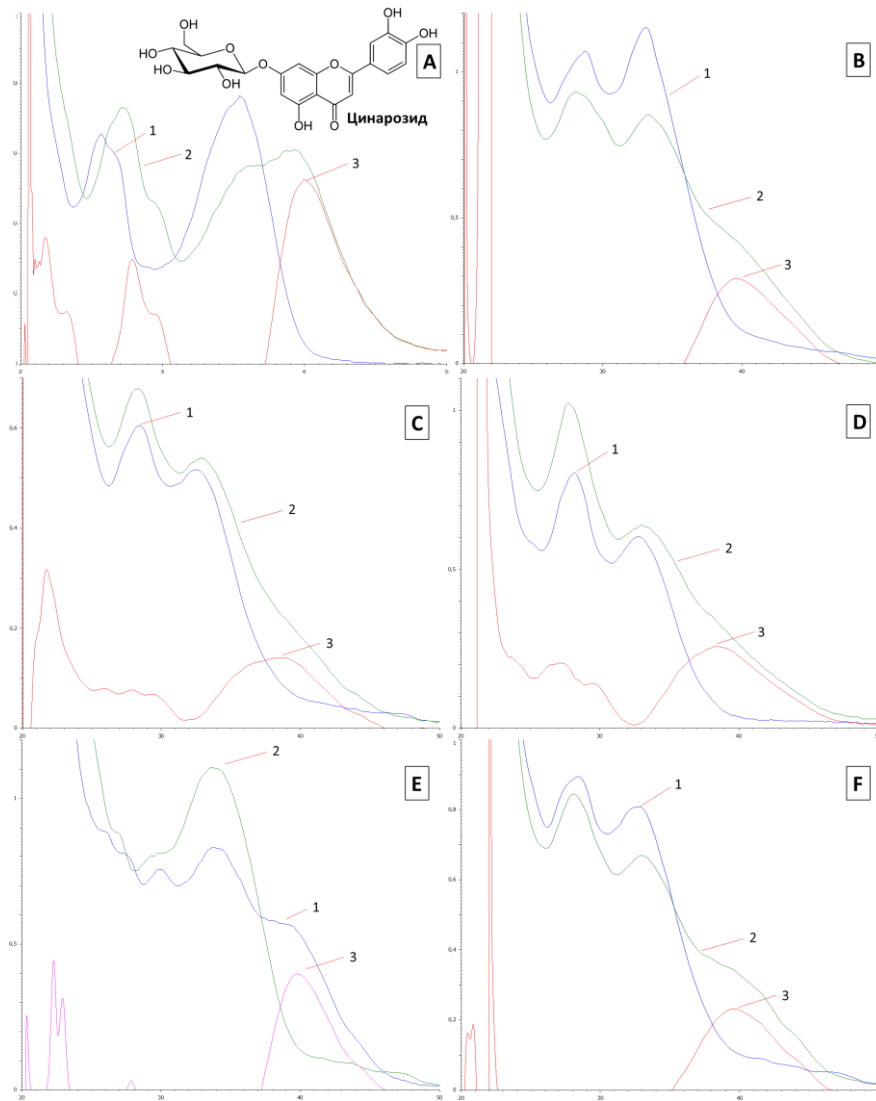


Рисунок 15 – Спектральные характеристики растворов на 70% спирте этиловом из листьев видов рода *Salvia* L.: А – СО цинарозида; В – ш. лекарственного; С – ш. дубравного; D – ш. мутовчатого; E – ш. поникающего; F – ш. кустарникового. Обозначения: 1 – электронный спектр поглощения исходного раствора; 2 – электронный спектр поглощения раствора с алюминия хлорида 3% раствором в спирте 96%; 3 – дифференциальный электронный спектр

Анализ дифференциальных кривых поглощения позволил выявить отличия по типу сырья (листья и стебли). В частности, у фармакопейного вида ш. лекарственного, дифференциальная кривая спектра поглощения водно-спиртового извлечения из листьев лишена максимумов в коротковолновой области. При этом извлечение из стеблей данного вида рода *Salvia* L., напротив, имеет максимумы поглощения в коротковолновой области, особенно выраженные для извлечений на

96% спирте этиловом (рис. 17). Так, дифференциальные кривые спектров поглощения на 96% спирте этиловом из стеблей ш. лекарственного имеют выраженные максимумы при длинах волн 229 нм, 268 нм, 308 нм. Использование данной особенности при анализе ЛРС ш. лекарственного позволит выявлять избыточное присутствие стеблей в данном виде сырья.

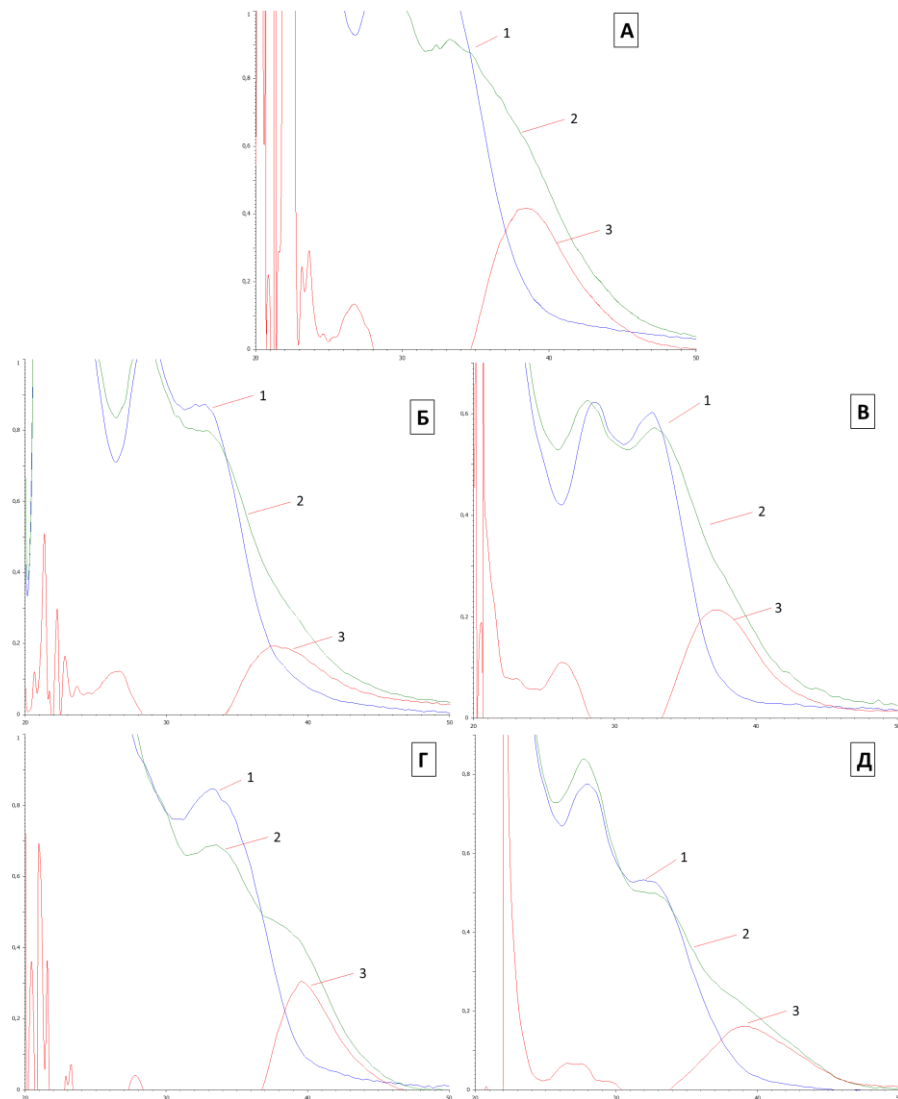


Рисунок 16 – Спектральные характеристики растворов на 40% спирте этиловом из стеблей видов рода *Salvia L.*: А – ш. лекарственного; Б – ш. дубравного; В – ш. мутовчатого; Г – ш. понижающего; Д – ш. кустарникового.

Обозначения: 1 – электронный спектр поглощения исходного раствора; 2 – электронный спектр поглощения раствора с алюминия хлорида 3 % раствором в спирте 96%; 3 – дифференциальный электронный спектр

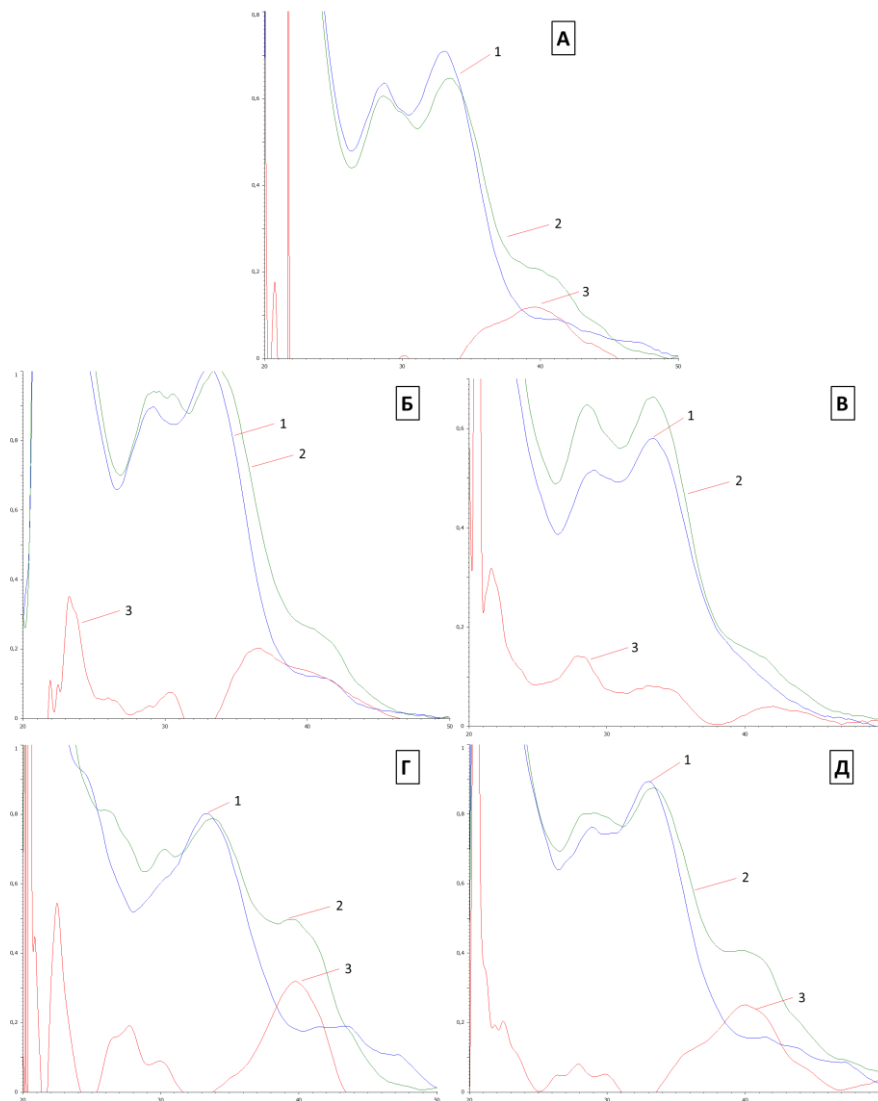


Рисунок 17 – Спектральные характеристики растворов на 96% спирте этиловом из листьев видов рода *Salvia* L.: А – ш. лекарственного; Б – ш. дубравного; В – ш. мутовчатого; Г – ш. поникающего; Д – ш. кустарникового.

Обозначения: 1 – электронный спектр поглощения исходного раствора; 2 – электронный спектр поглощения раствора с алюминия хлорида 3% раствором в спирте 96%; 3 – дифференциальный электронный спектр

При сравнении спектров поглощения извлечений листьев сравниваемых видов рода *Salvia* L. на 70% спирте этиловом из позволило выявить специфические особенности спектральных профилей (рис. 15). В частности, в дифференциальных кривых спектрах поглощения водно-спиртовых извлечений из листьев ш. мутовчатого и ш. дубравного на 70% спирте этиловом отмечается присутствие выраженных максимумов в областях  $274 \pm 4$  нм,  $293 \pm 1$  нм, что значительно отличает

их от дифференциального спектра поглощения извлечения на соответствующей концентрации спирта этилового из листьев ш. лекарственного.

Кроме того, в коротковолновой области дифференциальной кривой спектра поглощения у водно-спиртовых извлечений на 40% спирте этиловом из листьев ш. поникающего и ш. кустарникового диагностируются выраженные максимумы поглощения при  $263\pm 1$  нм,  $278\pm 2$  нм,  $295\pm 3$  нм, практически отсутствующие у ш. лекарственного при использовании того же экстрагента (рис. 16).

Результаты количественного определения содержания суммы флавоноидов в листьях и стеблях исследуемых видах рода *Salvia* L. представлены в таблице 13.

Таблица 14 – Результаты определения оптимального экстрагента для экстракции суммы флавоноидов из листьев и стеблей представителей рода *Salvia* L.

№	Вид	Экстрагент (спирт этиловый)	Содержание суммы флавоноидов (%) в листьях	Содержание суммы флавоноидов (%) в стеблях
1	Ш. лекарственный	40%	1,45±0,01	<b>0,76±0,02</b>
2	Ш. лекарственный	70%	<b>1,66±0,02</b>	0,26±0,01
3	Ш. лекарственный	96%	0,46±0,01	0,09±0,01
4	Ш. дубравный	40%	<b>0,96±0,01</b>	<b>0,34±0,01</b>
5	Ш. дубравный	70%	0,83±0,02	0,30±0,01
6	Ш. дубравный	96%	0,09±0,005	0,06±0,005
7	Ш. кустарниковый	40%	<b>1,62±0,02</b>	<b>0,54±0,01</b>
8	Ш. кустарниковый	70%	1,63±0,02	0,47±0,01
9	Ш. кустарниковый	96%	0,53±0,01	0,13±0,01
10	Ш. мутовчатый	40%	2,77±0,01	<b>0,83±0,02</b>
11	Ш. мутовчатый	70%	<b>3,48±0,03</b>	0,62±0,02
12	Ш. мутовчатый	96%	0,80±0,02	0,12±0,01
13	Ш. поникающий	40%	<b>3,87±0,01</b>	0,60±0,01
14	Ш. поникающий	70%	3,34 ±0,01	<b>0,88±0,02</b>
15	Ш. поникающий	96%	1,42±0,02	0,29±0,01

Как видно из таблицы 13, наибольшее содержание флавоноидов в сырье ш. лекарственного и других видах наблюдается при экстракции водными спиртами 40% - 70 % спиртом этиловым. Однако имеются межвидовые особенности. Так, для ш. лекарственного и ш. мутовчатого наибольшее содержание флавоноидов показали извлечения на 70% спирте этиловом  $1,66 \pm 0,02\%$  и  $3,48 \pm 0,03\%$  соответственно. Для ш. дубравного и ш. поникающего наибольшую экстрактивную активность проявил 40 % спирт этиловый  $0,96 \pm 0,01\%$  и  $3,87 \pm 0,01\%$  соответственно. Содержание флавоноидов в извлечениях ш. кустарникового показали близкие значения в 40 % и 70 % спирте этиловом  $1,62 \pm 0,02\%$  и  $1,63 \pm 0,02\%$  соответственно.

Сравнительный анализ привёл к выводу о том, что в стеблях всех исследуемых видов содержание суммы флавоноидов ниже чем в листьях соответствующих видов. При этом извлекающая способность спирта этилового снижается с увеличением его концентрации и снижением полярности.

Также необходимо отметить, что самое высокое содержание суммы флавоноидов в извлечении из листьев ш. поникающего, извлекаемое 40% спиртом этиловым, составило  $3,87 \pm 0,01\%$ .

Таким образом, в большинстве видов рода *Salvia* L. (ш. лекарственного, ш. кустарникового) для извлечения флавоноидов из листьев необходимы водно-спиртовые смеси в диапазоне концентраций 40% - 70% спирта этилового. Использование 96% спирта этилового приводит к значительному снижению выхода флавоноидов.

Исходя из данных содержания флавоноидов, ш. мутовчатый и ш. поникающий являются перспективными видами для дальнейшего детального исследования. Ввиду низкого содержания флавоноидов в стеблях растений рода *Salvia* L. применение ЛРС – «Трава» для данных видов нецелесообразно. При этом спектральные характеристики водно-спиртовых извлечений могут быть использованы в процессе стандартизации и выявления избыточного присутствия в сырье стеблевых частей.

#### **4.3.2. Результаты сравнительного спектрофотометрического анализа тритерпеноидов в листьях и стеблях некоторых представителей рода *Salvia* L.**

По литературным данным известно, что у представителей рода *Salvia* L. доминируют два тритерпеновых сапонины – олеаноловая кислота и урсоловая кислота [55]. Однако оба тритерпена в среде концентрированной серной кислоты имеют схожую анализируемую длину волны: так, для олеаноловой кислоты  $310 \pm 2$  нм [3, 71, 97], для урсоловой  $316 \pm 5$  нм [85]. В виду незначительной разницы между двумя данными тритерпенами в качестве СО в методике количественного определения тритерпеновых сапонинов взята олеаноловая кислота [97, 99]. Результаты спектрофотометрического анализа представлены на рисунке 22.

По результатам анализа спектральных кривых видно, что преобладающими максимумами поглощения для листьев ш. лекарственного является максимумы в областях 333 нм и 361 нм. Оба максимума поглощения имеет видовую специфичность для данного вида, и выявлены только для листьев ш. лекарственного.

У некоторых сравниваемых видов в спектральных кривых поглощения в области 361 нм имеется плечо (рис. 18). Так, у листьев ш. мутовчатого плечо детектируется в области 357 нм. У листьев ш. поникающего напротив в данной области спектра отмечается минимум 359 нм, при этом у этого вида отмечается максимум поглощения в области 400 нм, отсутствующий у других видов.

Все образцы, кроме листьев ш. лекарственного, имеют общий максимум поглощения в области  $325 \text{ нм} \pm 3 \text{ нм}$ . У листьев и стеблей ш. мутовчатого, ш. поникающего и ш. дубравного в области  $258 \text{ нм} \pm 3 \text{ нм}$ .

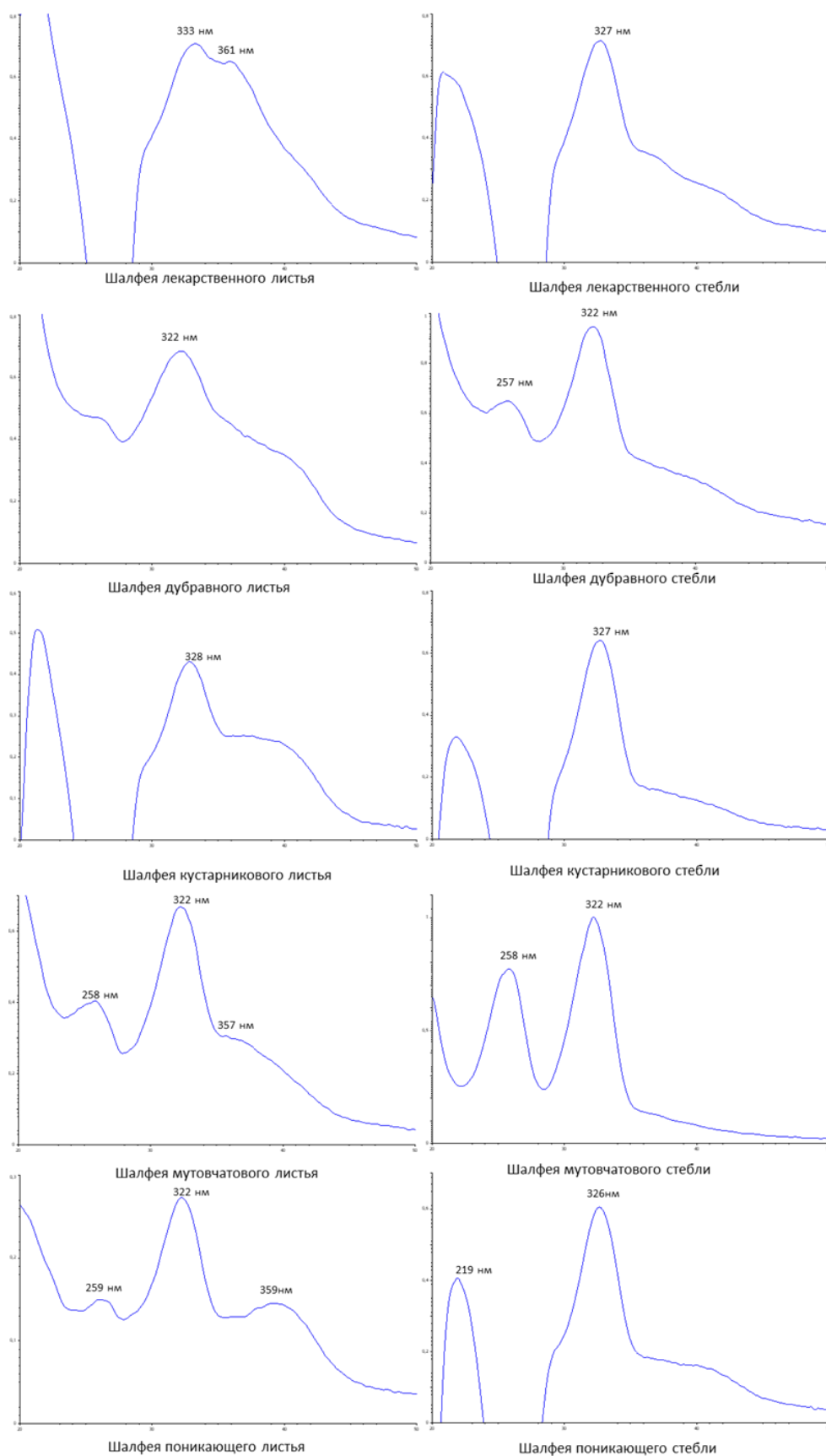


Рисунок 18 – Спектральные кривые извлечений из сырья некоторых видов рода *Salvia* L. в концентрированной серной кислоте

Результаты количественного содержания тритерпеновых соединений в пересчете на СО олеаноловую кислоту представлены в таблице 18.

Таблица 15 – Результаты содержание тритерпеновых кислот в стеблях и листьях некоторых видов рода *Salvia* L.

Наименование вида	Содержание суммы тритерпеновых кислот в листьях	Содержание суммы тритерпеновых кислот в стеблях
Ш. лекарственный	6,11±0,05%	2,84±0,05%
Ш. дубравный	6,71±0,04%	2,14±0,04%
Ш. мутовчатый	7,29±0,04%	10,06±0,05%
Ш. поникающий	12,05±0,05%	1,02±0,04%
Ш. кустарниковый	19,18±0,03%	2,75±0,04%

По результатам сравнительного количественного определения тритерпеновых кислот выявлена закономерность, что в листьях содержание тритерпенов выше, чем в стеблях, соответствующих видах рода *Salvia* L. Исключением является ш. мутовчатый, для которого в стеблях содержание тритерпенов выше, чем в листьях. Для данного вида рода *Salvia* L. выявлена перспектива использования травы в качестве источника тритерпеновых соединений.

Наибольшее содержание тритерпеновых соединений выявлено в листьях ш. кустарникового (19,18 %) и ш. поникающего (12,05 %).

Отмечена особенность для спектральных кривых извлечений из листьев ш. мутовчатого, ш. лекарственного и ш. поникающего помимо основного пика в области 322 нм, виден максимум поглощения диапозане от 357 нм до 361 нм. Для выявления химической природы данного пика, нами было дополнительно изучена спектральная характеристика карнозоловой кислоты в среде концентрированной серной кислоты. В результате чего выявлено, что карнозоловая кислота имеет максимум поглощения при длине волны  $361 \pm 2$  нм, что совпадает с максимумом поглощения детектируемых у трёх сравниваемых видах рода *Salvia* L. На основании этого результата была разработана методика количественного определения дитерпеновых соединений в сырье *Salvia* L. (глава 5).

### 4.3.3. Результаты сравнительного спектрофотометрического анализа дитерпенов в листьях и стеблях некоторых представителей рода *Salvia* L.

Помимо фенольных веществ спектральные характеристики извлечений позволяют анализировать и другие группы БАС. В частности, характерной для растений рода *Salvia* L. являются дитерпеновые соединения [34]. Рядом авторов ранее обсуждались вопросы определения дитерпенов в некоторых видах рода *Salvia* L. Была предложена методика спектрофотометрического определения данной группы проф. И.Н. Зилфикаровым. Однако ряд вопросов ещё не решён.

Спектральная характеристика образца карнозоловой кислоты (рис. 22), которая была получена в нашем эксперименте, совпала с литературными данными [41]. Рассчитанный удельный коэффициент поглощения оказался равен 49,84, что несколько отличается от литературного значения удельного коэффициента поглощения – 40,92 [41]. По нашему мнению, это связано со степенью чистоты рабочего СО.

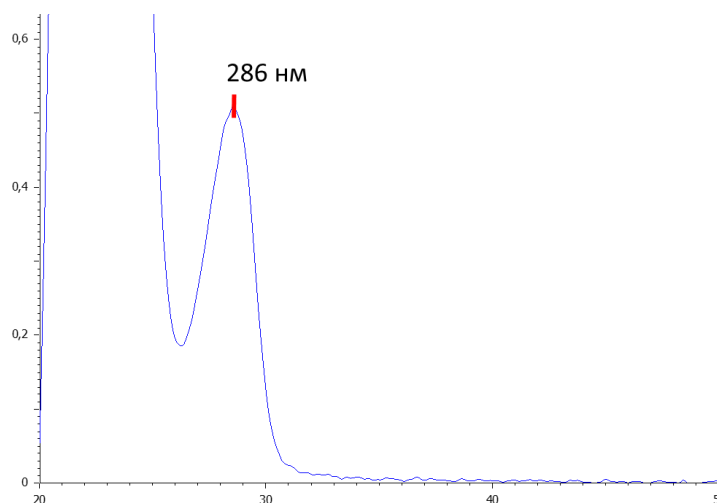


Рисунок 19 – Спектральная кривая спиртового раствора карнозоловой кислоты.

Следующим этапом исследования являлось сравнение спектров поглощения испытуемых растворов изучаемых представителей рода *Salvia* L., которые представлены на рисунках 19-22. Сравнительное изучение показало, что электронные спектры различных видов рода *Salvia* L.: ш. лекарственного, ш. дубравного, ш. поникающего, ш. мутовчатого и ш. кустарникового имеют характерный максимум поглощения при длине волны равной  $286 \pm 1$  нм (рис. 19-22), что согласуется с литературными данными [41], поэтому в качестве аналитической

длины волны целесообразно использовать значение 286 нм, так как карнозоловая кислота (рис. 19) является преобладающим дитерпеном и, следовательно, может использоваться в качестве рабочего СО.

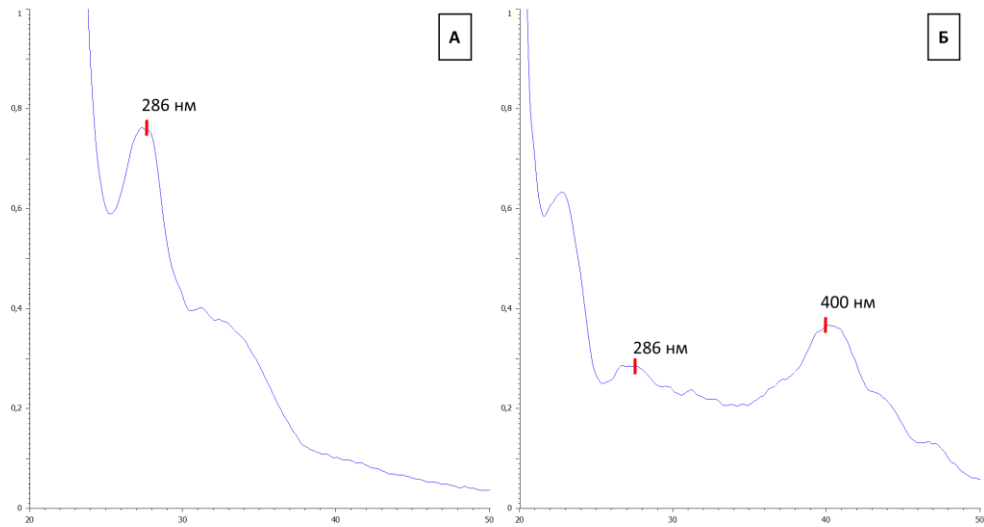


Рисунок 20 – Спектральные кривые испытуемых растворов: А – из листьев ш. лекарственного; Б – из листьев ш. мутовчатого

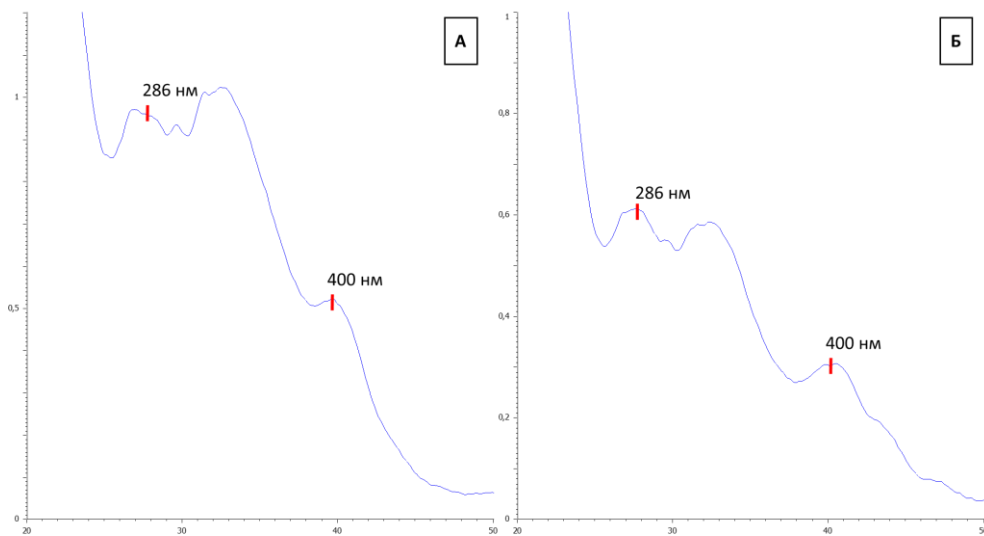


Рисунок 21 – Спектральные кривые испытуемых растворов: А – из листьев ш. поникающего; Б – из листьев ш. дубравного.

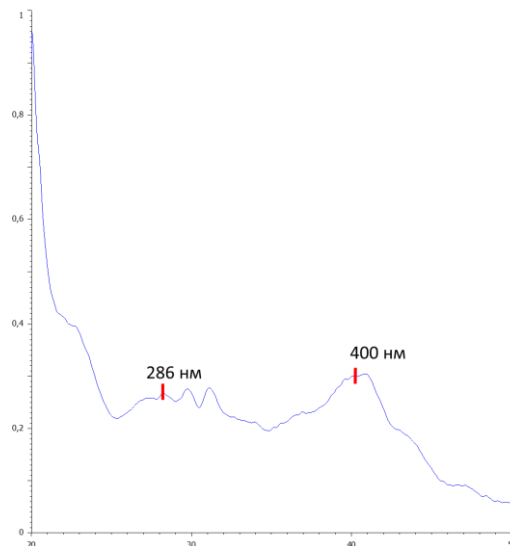


Рисунок 22 – Спектральная кривая испытуемого раствора из листьев ш. кустарникового.

Используя методику количественного определения дитерпеновых кислот проф. И.Н. Зилфикарова в различных видах рода *Salvia* L., мы проанализировали 20 образцов с 11-кратной повторностью. Метрологические характеристики методики количественного измерения общего количества дитерпеновых кислот в сырье различных видов ш. (2024 года заготовки) представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы дитерпеновых соединений в пересчете на карнозоловую кислоту в листьях исследуемых видов рода *Salvia* L. (2024 г.)

Наименование вида	$f$	$\bar{X}$	$S^2$	$S$	$S_{\bar{X}}$	$P, \%$	$t(P, f)$	$\Delta X$	$\Delta \bar{X}$	$\bar{\varepsilon}$	$\varepsilon, \%$
Ш. лекарственный	10	1,38	0,00061	0,02471	0,0074	95%	2,23	$\pm 0,06$	$\pm 0,02$	$\pm 1,20$	$\pm 3,98$
Ш. кустарниковый	10	0,29	0,00002	0,00497	0,0015	95%	2,23	$\pm 0,01$	$\pm 0,003$	$\pm 1,17$	$\pm 3,87$
Ш. мутовчатый	10	0,29	0,00004	0,00637	0,0019	95%	2,23	$\pm 0,01$	$\pm 0,004$	$\pm 1,47$	$\pm 4,89$
Ш. дубравный	10	0,66	0,00019	0,01361	0,0041	95%	2,23	$\pm 0,03$	$\pm 0,01$	$\pm 1,38$	$\pm 4,57$
Ш. поникающий	10	1,01	0,00036	0,01902	0,0057	95%	2,23	$\pm 0,04$	$\pm 0,01$	$\pm 1,27$	$\pm 4,21$

Примечание:  $f$  – число степеней свободы;  $\bar{X}$  – среднее значение;  $S^2$  – дисперсия;  $S$  – стандартное отклонение;  $S_{\bar{X}}$  – относительное (по отношению к среднему результату) стандартное отклонение среднего результата;  $P$  – доверительная вероятность;  $t$  – критерий Стьюдента;  $\Delta X$  –

полуширина доверительного интервала результата единичного определения;  $\Delta\bar{X}$  – полуширина доверительного интервала среднего результата;  $\bar{\varepsilon}$  – относительные неопределенности результата отдельного определения;  $\varepsilon$  – относительные неопределенности среднего результата.

В соответствии с полученными результатами заметно сходство спектральных кривых ш. мутовчатого (рис. 20Б) и ш. кустарникового (рис. 22). Однако максимум поглощения карнозоловой кислоты при длине волны равной 286 нм выражен слабее. При этом у данных видов в спектральной кривой поглощения преобладает максимум с длиной волны в области 400 нм. Отличие спектральных кривых поглощения может быть использовано при химической таксации видов и подтверждения подлинности фармакопейного сырья ш. лекарственного.

Характер электронных спектров извлечений листьев ш. дубравного (рис. 21Б) и листьев ш. поникающего (рис. 21А) свидетельствуют о сходстве между ними, что также может быть использовано при видовой химической диагностике.

В результате было определено, что содержание дитерпеновых кислот в листьях различных видов рода *Salvia* L. (разных годов заготовки) значительно отличается. Сумма дитерпеновых кислот в листьях колеблется от 0,29% до 6,57 % (табл. 17). Наибольшее содержание соединений дитерпеновой природы обнаружено в листьях ш. лекарственного – 3,80 %  $\pm$  0,05 % (2023 г.) 1,38%  $\pm$  0,02% (2024 г.), что обуславливает характерную особенность спектральной кривой поглощения с более выраженным максимумом поглощения при 286 нм (рис. 20А).

Таблица 17 – Содержание дитерпеновых кислот в пересчете на карнозоловую кислоту в листьях исследуемых видах рода *Salvia* L. в зависимости от года заготовки (по методике профессора И.Н. Зилфикарова)

Наименование вида	Содержание дитерпеновых кислот, %			
	2023 год ацетон	2024 год ацетон	2025 год ацетон	2025 год спирт этиловый 96%
Ш. лекарственный	3,80 $\pm$ 0,05	1,38 $\pm$ 0,02	4,19 $\pm$ 0,05	4,27 $\pm$ 0,05

Ш. кустарниковый	3,71±0,03	0,29±0,03	4,05±0,04	4,10±0,03
Ш. мутовчатый	2,54±0,03	0,29±0,04	1,82±0,04	1,87±0,05
Ш. дубравный	2,56±0,05	0,66±0,01	3,01±0,05	3,10±0,04
Ш. поникающий	2,54±0,05	1,01±0,01	6,47±0,03	6,57±0,05

С использованием разработанной нами методики (см. главу 5. Раздел 5.2.) было проанализировано десять образцов листьев и стеблей ш. лекарственного, ш. мутовчатого, ш. поникающего, ш. кустарникового и ш. дубравного (2025 года заготовки). Результаты приведены в таблице 18.

Таблица 18– Содержания суммы дитерпеновых кислот в абсолютно сухом сырье (в %) в пересчете на карнозоловую кислоту в листьях и стеблях некоторых видов рода *Salvia* L., 2025 года заготовки (по авторской методике)

Наименование вида	Содержание суммы дитерпеновых кислот в листьях	Содержание суммы дитерпеновых кислот в стеблях
Ш. лекарственный	4,39±0,05 %	0,97±0,05 %
Ш. дубравный	4,26±0,04 %	0,48±0,04 %
Ш. мутовчатый	2,03±0,04 %	0,93±0,05 %
Ш. поникающий	3,50±0,05 %	0,25±0,04 %
Ш. кустарниковый	8,57±0,03 %	0,57±0,04 %

Определено, что содержание суммы дитерпенов в анализируемых образцах, собранных в Самарской области во время цветения в 2025 году, варьирует от 2,03±0,04 % до 8,57±0,03 % в зависимости от вида сырья и таксона (табл. 18). Кроме того, выявлено, что содержание дитерпеновых кислот в листьях значительно больше, чем в стеблях, что подтверждает нецелесообразность применение ЛРС – «Трава» для ш. лекарственного.

#### 4.4. Результаты сравнительного ВЭЖХ-анализа некоторых представителей рода *Salvia* L.

Следующим этапом диссертационной работой стало сравнение фенольного и дитерпенового компонентного состава методом ВЭЖХ с использованием СО флавоноидной, фенилпропаноидной и дитерпеновой природы.

#### 4.4.1. Результаты сравнительного ВЭЖХ-анализа фенольных компонентов некоторых представителей рода *Salvia L.*

Изучения компонентного состава фенольной природы методом ВЭЖХ-анализа с использованием СО рутина, СО цинарозида, СО кверцетина, СО лутеолина, СО розмариновой кислоты.

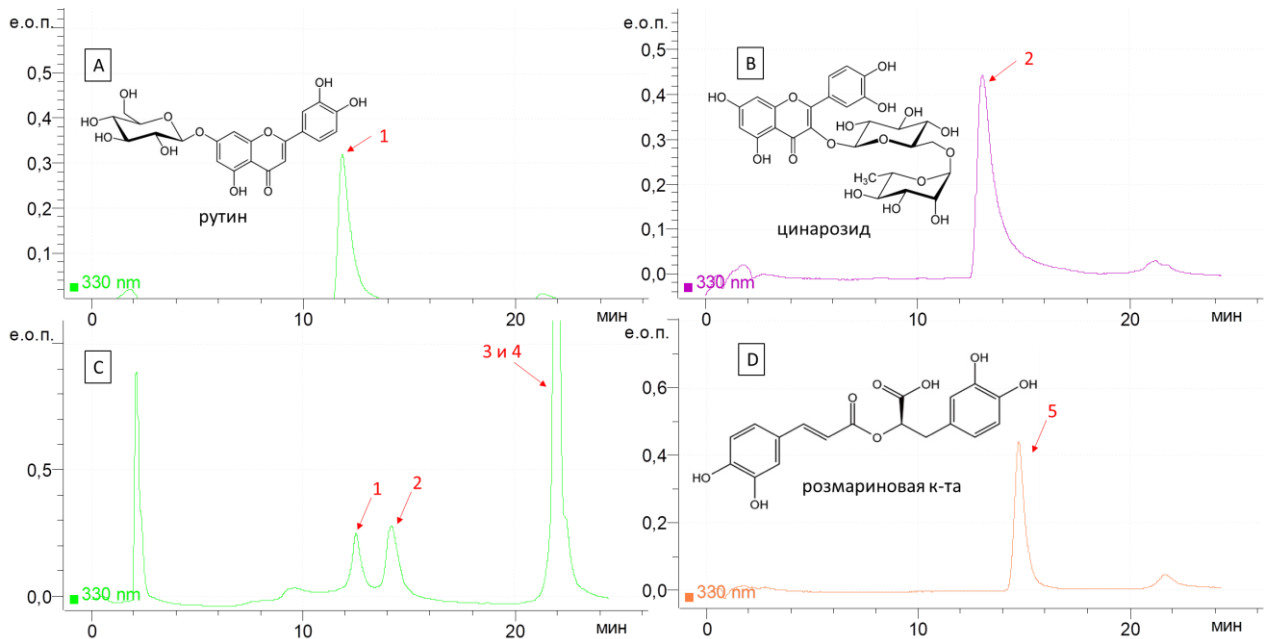


Рисунок 23 – Хроматографические профили СО: А – рутин; В – цинарозид; С – сумма флавоноидов: рутин, цинарозид, лутеолин и кверцетин; D – розмариновая кислота.

Обозначения: 1 – рутин; 2 – цинарозид; 3 и 4 – кверцетин и лутеолин; 5 – розмариновая кислота

По результатам хроматографического разделения в используемых условиях градиента настоящего исследования СО рутина имеет время удерживания в диапазоне 11,0-11,5 мин (рис. 23 А).

При этом смесь СО флавоноидов в используемом градиенте разделяется не полностью, а именно лутеолин и кверцетин выходят одним пиком на 20,5 мин (рис. 23 С). Флавоноиды рутин и цинарозид селективно разделяются и выходят соответственно на 11,5 мин и 12,5 мин (рис. 23 С).

Дальнейшим этапом исследования являлось сравнение хроматографических профилей водно-спиртовых извлечений из листьев исследуемых видов рода *Salvia* L., полученных на 70% спирте этиловом. При сравнении хроматографических профилей исследуемых видов рода *Salvia* L. очевидно отличие по совокупности пиков и их интенсивности, что позволяет говорить о селективности метода и возможности их химической таксации (рис. 24 и 25). Подобранные хроматографические условия градиента позволяют селективно разделять группу фенольных соединений (рутин, цинарозид, розмариновая кислота) в изучаемых образцах и проводить их детектирование при длине волны 330 нм (рис. 24).

Путём добавления СО рутина к анализируемым извлечениям исследуемых видов рода *Salvia* L. достоверно не подтверждено его наличие в пробах ш. дубравного и ш. мутовчатого. Необходимо отметить, что ранее рядом исследователей трактовалось присутствие флавонола рутина в ш. дубравным и ш. мутовчатом [140, 152]. Результаты настоящих исследований вкупе с ранее описанными данными позволяют предположить крайне низкое содержание, либо отсутствие рутина в листьях ш. мутовчатом и ш. дубравном.

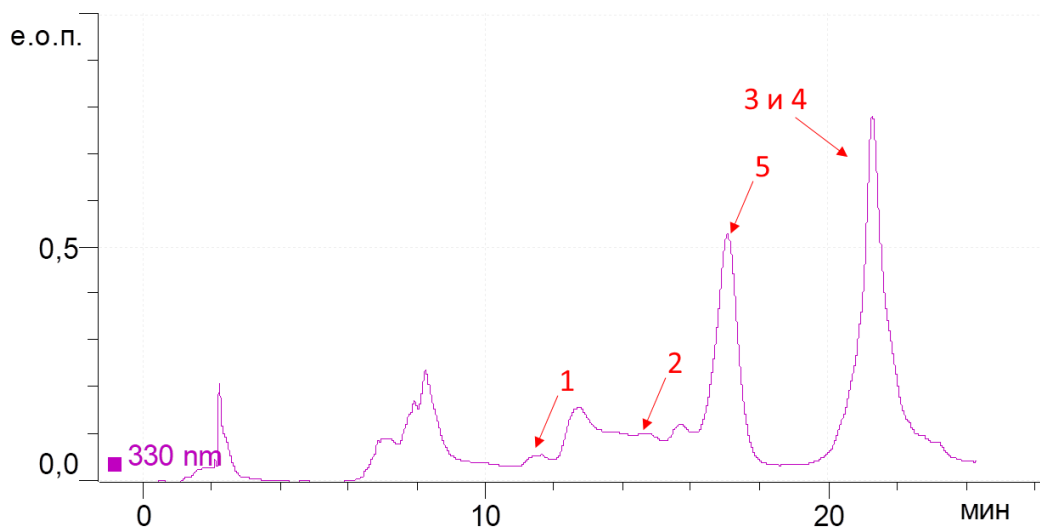


Рисунок 24 – Хроматографический профиль извлечения из листьев ш. лекарственного.

Обозначения: 1 – рутин; 2 – цинарозид; 3 и 4 – кверцетин и лютеолин; 5 – розмариновая кислота

Согласно данным литературы, рутин содержится в листьях ш. лекарственного, ш. поникающего и ш. кустарникового [140, 152, 160], что соответствует результатам наших исследований. Так, методом пробы с добавкой СО рутин достоверно доказано присутствие данного флавоноида в ш. лекарственном, ш. кустарниковом и ш. поникающем, детектируемым в виде пика в диапазоне 11,2 - 13,4 мин.

Также с помощью пробы с добавкой СО цинарозида проанализировано присутствие флавоноида в исследуемых водно-спиртовых извлечениях анализируемых видов рода *Salvia L.* При этом достоверно не подтвердилось наличие цинарозида в ш. мутовчатом, что не согласуется с литературными данными [152, 158, 160]. В остальных видах ш. лекарственный, ш. кустарниковый, ш. поникающий, ш. дубравный цинарозид детектировался, однако в виду нестабильности градиента время удерживания пика цинарозида колебалось в диапазоне 11,5-17 (рис. 24 и 25).

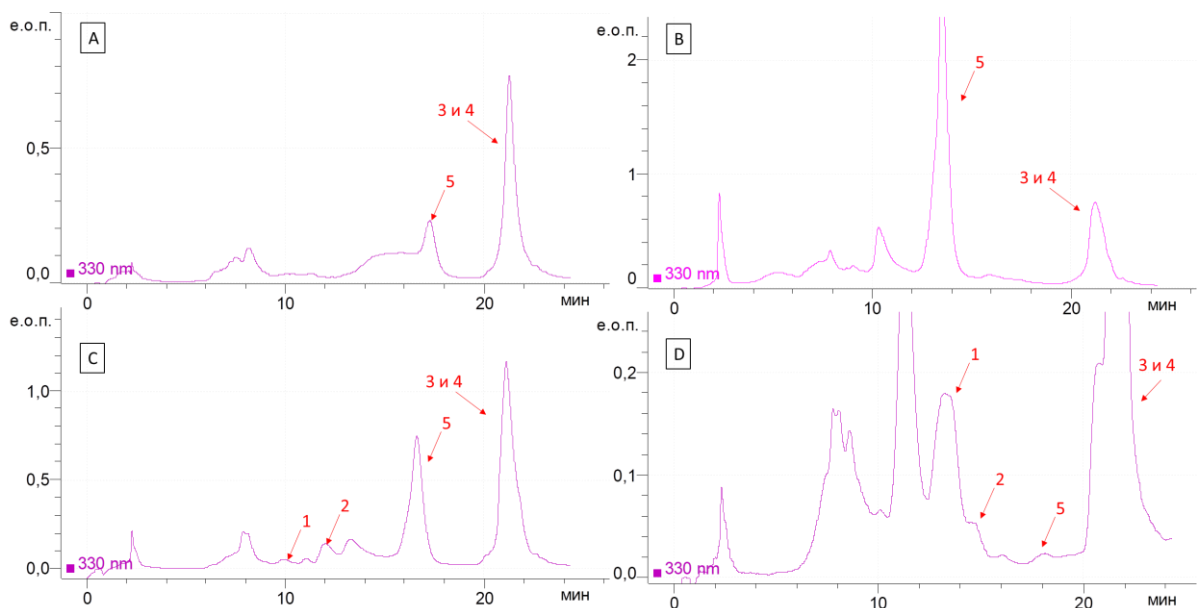


Рисунок 25 – Хроматографические профили извлечений из листьев видов рода *Salvia L.*: А – ш. дубравного; В – ш. мутовчатого; С – ш. кустарникового; Д – ш. поникающего.

Обозначения: 1 – рутин; 2 – цинарозид; 3 и 4 – кверцетин и лютеолин; 5 – розмариновая кислота

Результаты количественного содержания индивидуальных флавоноидов в листьях различных видов *Salvia L.* представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Содержание флавоноидов (в %) в пересчете по высоте пика в листьях представителей рода *Salvia L.*

Наименование вида	Рутин		Цинарозид	
	Экспериментальные данные	Литературные данные	Экспериментальные данные	Литературные данные
Ш. лекарственный	0,064±0,005	0,008 [160] *н/о [152]	0,008±0,001	0,006-0,2 [152, 158, 160]
Ш. кустарниковый	0,046±0,005	0,036 [152]	0,432±0,01	0,025 [152]
Ш. поникающий	0,503±0,01	н/о [152] 0,032 [140]	0,085±0,06	0,235 [152, 158]
Ш. мутовчатый	н/о	0,0056-0,061 [140, 152] н/о [14,160]	н/о	н/о [160] 0,7 [20, 152]
Ш. дубравный	н/о	0,0027 [140] н/о [152, 160]	0,009±0,001	н/о [160] 0,55 [152, 158,]

\*Примечание: н/о – не обнаружен

Наибольшее содержание цинарозида среди исследуемых образцов обнаружено у ш. кустарникового (0,432±0,01%), а наибольшее содержание рутина – у ш. поникающего (0,503±0,01%), что не согласуется с литературными данными (табл. 19). Остальные экспериментальные результаты соответствуют литературным сведениям. Нами предполагается, что причина разночтений в различии географического произрастания образцов и разных экологических факторов.

Помимо проанализированного содержания рутина и цинарозида необходимо отметить присутствие во всех образцах агликонов – кверцетина и лютеолина, однако ввиду неселективного разделения в данном градиентном режиме, уточнение соотношения содержания этих флавоноидов является задачей дальнейших исследований.

Кроме того, на ВЭЖХ хроматограммах детектируется пик вещества фенольной природы в диапазоне 13-18 минут (рис. 24 и 25), присутствующий во всех исследуемых образцах. Результат метода добавки СО розмариновой кислоты

(рис. 24 D), позволил подтвердить принадлежность пика к фенилпропаноиду – розмариновой кислоте, содержание которой характерно для большинства видов рода *Salvia* L. и является качественным показателем ш. лекарственного [14, 152, 158, 160].

Содержание розмариновой кислоты в листьях исследуемых видов рода *Salvia* L. проводили аналогично расчету содержания рутина и цинарозида (табл. 20).

Таблица 20 – Содержание розмариновой кислоты в процентах в листьях представителей рода *Salvia* L.

Наименование вида	Содержание розмариновой кислоты в пересчете по высоте пика	
	Экспериментальные данные	Литературные данные
Ш. лекарственный	2,48±0,01	0,57-3,88 [152, 158, 160]
Ш. кустарниковый	<b>3,20±0,02</b>	0,12 [152]
Ш. поникающий	0,04±0,002	0,012 [152, 158]
Ш. мутовчатый	3,07±0,03	0,052-3,02 [14, 152, 158, 160]
Ш. дубравный	0,90±0,01	0,31-1,42 [152, 158, 160]

Наибольшее содержание розмариновой кислоты в испытуемых пробах выявлено у ш. кустарникового составило 3,20±0,02% (табл. 20). Однако полученные результаты не в полной мере согласуются с литературными данными [14, 152, 158, 160]. В остальных исследуемых видах рода *Salvia* L. розмариновая кислота содержится в меньшем количестве. Необходимо отметить, что согласно литературным данным розмариновая кислота доминирует в листьях видов рода *Salvia* L., кроме ш. кустарникового и ш. поникающего [14, 152, 158, 160], что не подтверждается полученными результатами настоящих исследований (табл. 20). В частности, ш. кустарниковый показал высокое содержание розмариновой кислоты (3,20±0,02%) (табл. 20).

#### 4.4.2. Результаты сравнительного ВЭЖХ-анализа карнозоловой кислоты некоторых представителей рода *Salvia* L.

Следующим этапом анализа было определение содержания карнозоловой кислоты в пяти видах рода *Salvia* L. методом ВЭЖХ. Подобрали оптимальную

хроматографическую систему – ацетонитрил : вода (6 : 4). Хроматографический профиль раствора СО карнозоловой кислоты в данных хроматографических условиях разделения приведен на рисунке 27.

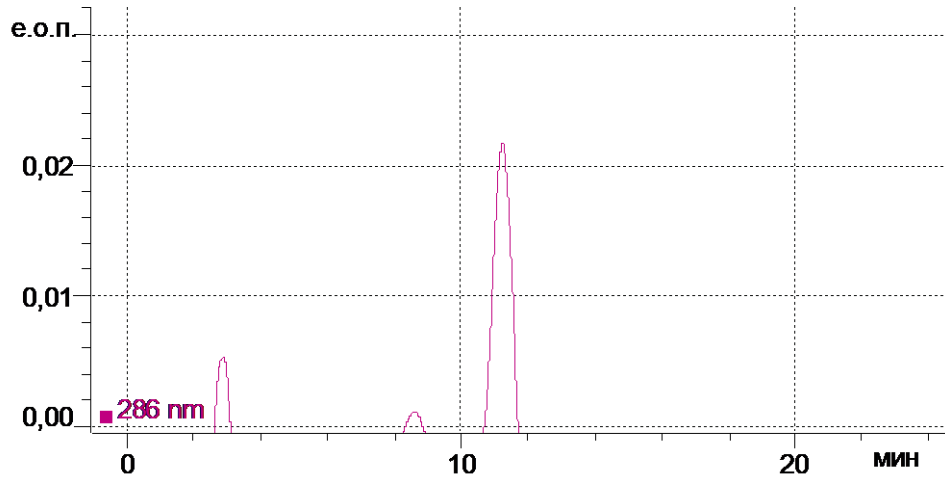


Рисунок 26 – Хроматографический профиль СО карнозоловой кислоты в системе растворителей ацетонитрил : вода (6 : 4).

При использовании указанных хроматографических условий пик карнозоловой кислоты характеризуется временем удерживания 11,7 мин (рис. 26); при этом аналогичный пик в хроматографическом профиле настойки отсутствует. Так как, ранее по результатам собственного ТСХ-анализа (глава 5 раздел 5.3) и литературным данным, выявлено, что основной дитерпен – карнозоловая кислота имеет нестабильность в гидрофильных растворителях, для проведения ВЭЖХ-анализа необходимо применять пробоподготовку с обработкой щёлочью. В качестве пробоподготовки использована методика, аналогичная применяемой в спектрофотометрическом методе, предложенном проф. И. Н. Зилфикаровым [39, 41].

При сравнении хроматографических профилей растворов, полученных по методу профессора И.Н. Зилфикарова, подтверждается содержание карнозоловой кислоты в листьях ш. лекарственного и ш. мутовчатого. В ш. дубравном карнозоловой кислоты не обнаружено (рис. 27).

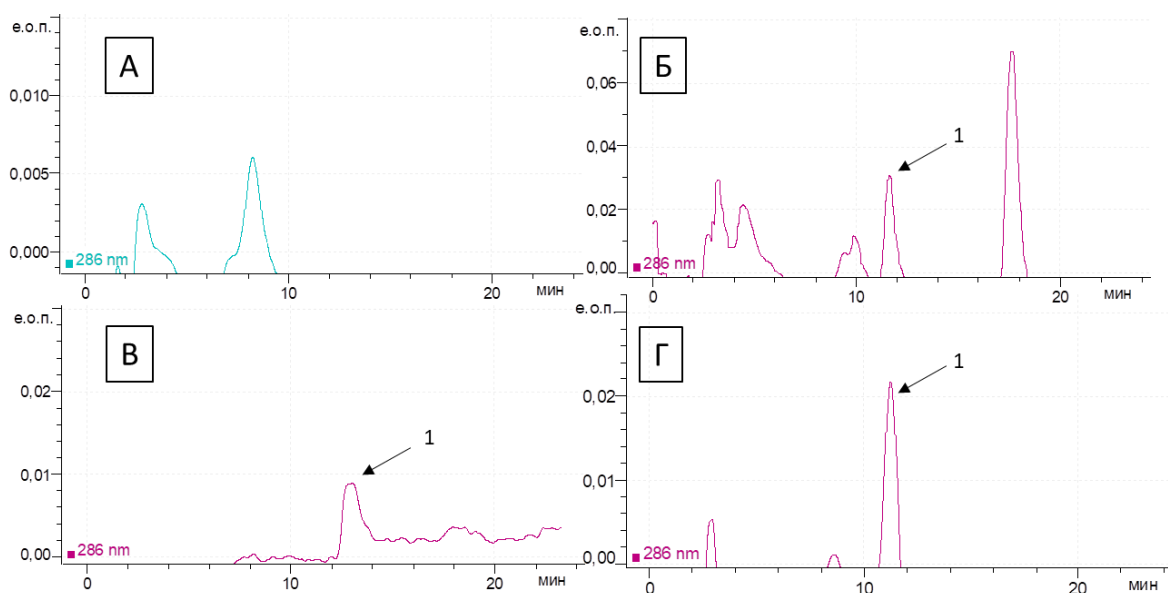


Рисунок 27 – Хроматографические профили образцов в системе растворителей ацетонитрил : вода (6 : 4): А – ацетонового извлечения из листьев ш. дубравного; Б – ацетонового извлечения из листьев ш. лекарственного; В – ацетонового извлечения из листьев ш. мутовчатого; Г – СО карнозоловой кислоты.

Обозначения: 1 – карнозоловая кислота

#### 4.5. Определение содержания эфирного масла в некоторых представителях рода *Salvia* L.

Содержание эфирного масла в растениях семейства *Lamiaceae* является одной из важных химико-таксономических характеристик данного семейства. К тому же известно, что все виды рода *Salvia* L. являются эфиромасличными культурами. Однако литературный обзор не выявил достоверных данных сравнения эфирных масел в исследуемых видах.

Оценка эфирного масла в образцах проводили методу Клевенджера из 300 г листьев 5-ти видов рода *Salvia* L. получали количественно эфирное масло, с учётом дальнейшего изучения качественного состава эфирного масла в ГХ-МС.

В листьях ш. лекарственного содержание составило 0,22 %, что соответствуют требованиям ГФ РФ XV издания [23]. Для остальных видов рода *Salvia* L. содержание эфирного масла не значительное (менее 0,05 %).

Таким образом выявлено, что эфирное масло в достаточном количестве содержится только у ш. лекарственного, для других исследуемых видов его содержание в общей массе БАС незначительное.

#### 4.6. Сравнительное исследование компонентного состава эфирных масел листьев некоторых представителей рода *Salvia L.*

Хроматографические профили ГХ-МС исследуемых видов рода *Salvia L.* представлены на рисунке 28. Визуальная оценка хроматографических профилей позволяет предполагать возможность их использования в качестве маркера при определении видовой специфичности шалфеев по составу эфирного масла.

Качественный анализ ГХ-МС позволил определить диагностические вещества для подлинности ш. лекарственного относительно других видов (рис. 28). Результаты оценки ГХ-МС и расшифровка хроматографических профилей представлены в таблице 21.

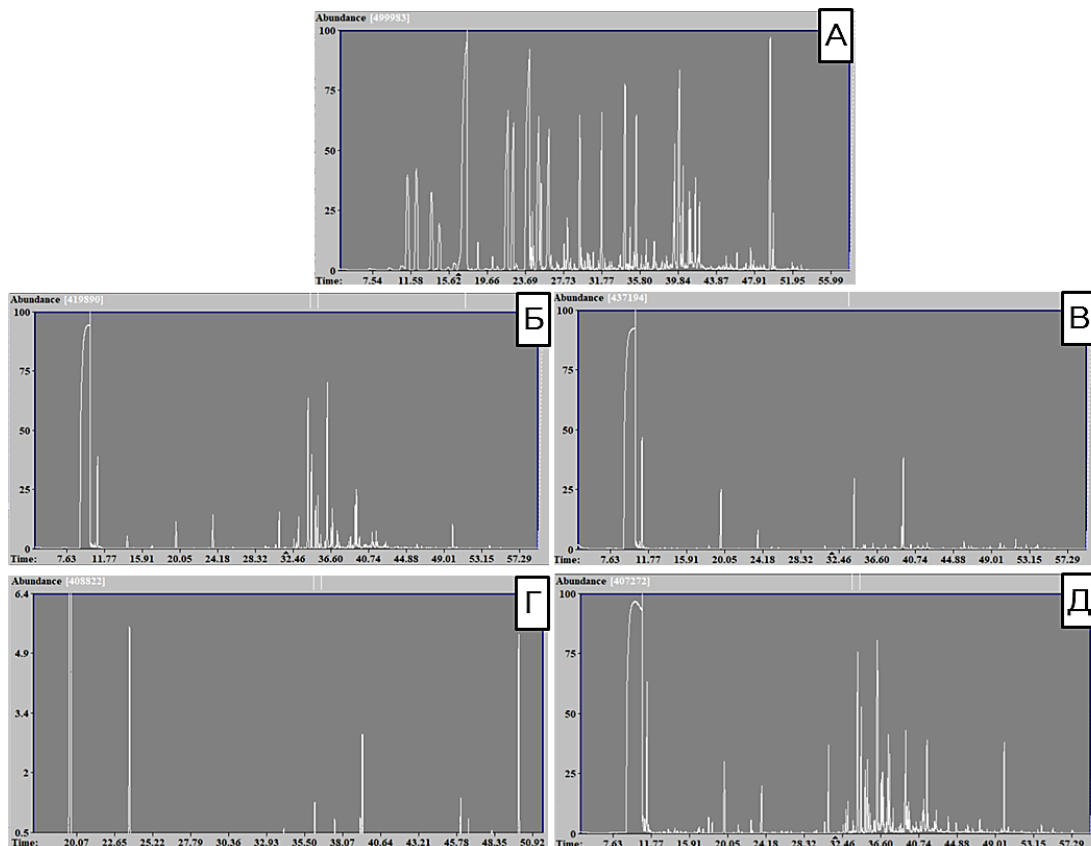


Рисунок 28 – Хроматографические профили эфирных масел исследуемых видов рода *Salvia L.*: А – ш. лекарственный, Б – ш. понижающий, В – ш. дубравный, Г – ш. кустарниковый, Д – ш. мутовчатый.

Таблица 21 – Результаты эфирно-масличного компонентного состава листьев  
исследуемых видов рода *Salvia* L.

Время удерживания	Наименование	Ш. лекарственный	Ш. понижающий	Ш. дубравный	Ш. кустарниковый	Ш. мутовчатый
11,25	$\alpha$ -Пинен	2,53	-	-	-	0,18
12,19	Камфен	4,34	-	-	-	-
13,76	$\beta$ -Пинен	3,17	-	0,18	-	0,06
17,01	1,8-Цинеол	20,78	0,42	0,38	2,76	0,004
21,66	$\beta$ -Линалоол	2,11	-	-	-	0,41
21,89	$\alpha$ -Туйон	5,50	-	-	-	-
22,44	Фенхол	4,45	-	-	-	-
24,15	Камфора	13,18	-	-	-	-
26,21	$\alpha$ -Терпинеол	4,57	0,21	0,54	2,26	0,11
29,48	Борнилацетат	2,28	0,21	-	-	-
30,97	Эликсен	-	3,08	0,7	-	3,81
31,81	$\alpha$ -Гвайен	2,60	0,04	-	-	0,02
34,14	$\beta$ -Иланген	-	-	-	-	11,17
34,25	$\beta$ -Кариофиллен	3,80	18,76	18,14	5,31	1,77
34,51	$\beta$ -Кубенен	-	8,93	0,31	1,04	6,12
34,95	$\gamma$ -Муролен	0,14	3,79	0,26	-	2,73
35,21	$\gamma$ -Кадинен	0,12	4,92	-	-	3,95
35,44	Гумулен	2,36	0,41	1,11	-	-
36,2	$\beta$ -Ионон	0,08	-	1,57	8,76	-
36,26	Гемакрен D	-	22,96	-	-	14,53
36,83	$\alpha$ -Фарнезен	-	-	0,21	-	3,28
37,39	$\beta$ -Кадинен	0,32	1,76	-	-	2,64
37,46	$\gamma$ -Элемене	-	-	-	-	4,53
37,55	Оливетол	-	-	1,09	8,76	-
38,6	E-Неролидол	-	-	0,68	5,29	-
39,31	Спатуленол	0,65	4,86	6,38	5,39	7,63
39,45	Кариофиллена оксид	1,69	6,08	25,96	20,75	1,3
49,99	Фитол	0,37	1,47	1,37	26,24	2,47

По результатам сравнительного анализа содержания эфирного масла и компонентного состава эфирного масла в листьях пяти видов рода *Salvia* L., произрастающих на территории Самарской области, доказана специфичность профиля компонентного состава эфирного масла ш. лекарственного по содержанию 1,8 цинеола и камфоры, которые являются доминирующими компонентами эфирного масла ш. лекарственного, в других видах их содержание значительно меньше. Кроме того, выявлены компоненты эфирного масла, обладающие видовой специфичностью для ш. лекарственного: камфен (4,34 %),  $\alpha$ -туйон (5,5 %),  $\alpha$ -терпинол (4,57 %).

В эфирном масле листьев ш. поникающего было идентифицировано 15 компонентов, доминирующими из которых являются гемакрен D (22,96 %) и  $\beta$ -кариофиллен (18,76 %). Для данного вида установлены преобладающие соединения:  $\beta$ -кубенен (8,93 %), кариофиллена оксид (6,08 %), спатуленол (4,86 %).

В эфирном масле листьев ш. дубравного установлено 15 соединений. Отмечено высокое содержание кариофиллена оксида (25,96 %) и  $\beta$ -кариофиллена (18,14 %), также в качестве основного компонента можно выделить спатуленол (6,38 %).

В эфирном масле листьев ш. кустарникового выявлено 10 компонентов. К доминирующим компонентам относятся кариофиллена оксид (20,75 %), фитол (26,24 %). Также в качестве основных компонентов выступают  $\beta$ -ионон (8,76 %), оливетол (8,76 %), спатуленол (5,39 %).

В эфирном масле листьев ш. мутовчатого выявлено 19 соединений. Установлено высокое содержание  $\beta$ -илангена (11,17 %),  $\beta$ -кубенена (6,12%), спатуленола (7,63 %).

Для представителей рода *Salvia* L. характерно преобладание терпеноидных соединений в составе эфирных масел, однако качественное распределение мажорных компонентов демонстрирует выраженную межвидовую вариативность. В связи с этим, идентификация химического профиля эфирного масла методом газовой хромато-масс-спектрометрии позволяет верифицировать подлинность шалфея лекарственного. Данный аналитический подход служит объективным

инструментом контроля качества, чистоты и аутентичности растительного сырья *Salvia officinalis* L.

#### **4.7. Препаративное выделение и идентификация веществ из *Salvia nemorosa* L. и *Salvia verticillata* L.**

Ранее в литературе для представителей рода *Salvia* L. описаны дитерпены и тритерпены, как важные биологически активные соединения [40, 152, 158, 160, 168, 173]. По мнению ряда учёных, антимикробный и противовоспалительный эффекты обусловлены за счёт дитерпеновых кислот наравне с эфирным маслом и дубильными веществами [40]. Для ш. мутовчатого методом ВЭЖХ нами было доказано содержание карнозоловой кислоты, которая является основным дитерпеном [140, 152]. Содержание тритерпеновых соединений для ш. дубравного изучалось ранее [152, 153, 173]. При этом описывается, что содержание урсоловой кислоты более высокое по сравнению с олеаноловой кислотой [152, 153, 173].

Вследствие не решённых вопросов по содержанию дитерпеновых и тритерпеновых соединений в ш. мутовчатом и ш. дубравном, нами проведено исследования по их препаративному выделению [33].

В виду липофильности исходной группы БАС получали хлороформные экстракты. Для этого брали 100 г измельченных листьев ш. дубравного/ш. мутовчатого (размер частиц не более 2 мм), укладывали в «резервуар» (патрон из фильтровальной бумаги). Далее «резервуар» помещали в циркуляционный экстрактор Сокслета. В приемную колбу заливали 1,2 литра хлороформа, при этом строго выдерживалось весовое соотношение измельченных листьев шалфея к экстрагенту как 1:12. Собранную установку, оснащенную обратным водяным холодильником, нагревали на кипящей водяной бане. Экстрагировали листья ш. дубравного/ш. мутовчатого в течение 12-ти часов (3-4 слива в час) [82].

Далее экстракт из листьев ш. дубравного наносили на силикагель марки КСК измельченный (фракция 0,05-0,10 мм, ТУ 6-09-39-23-86, производитель: ООО «ИМИД», Россия). Сорбированный экстракт разделяли на фракции методом препаративной колоночной хроматографии. Элюирование вели в градиентном

режиме с увеличения полярности элюентов от гексана к хлороформу и, далее в этанол в результате было получено 62 фракций (табл. 22).

Таблица 22 – Ход элюирования веществ ш. дубравного в условиях колоночной хроматографии.

Гексан, %	Хлороформ, %	Спирт этиловый, %	Элюент, мл	Номер фракции
100	0	0	300	1-3
80	20	0	300	4-6
60	40	0	500	7-11
40	60	0	500	12-16
20	80	0	500	17-21
0	100	0	500	22-26
0	99	1	300	27-29
0	98	2	300	30-32
0	97	3	300	33-35
0	95	5	300	36-38
0	93	7	300	39-41
0	90	10	300	42-44
0	85	15	400	45-48
0	75	25	500	49-53
0	0	100	900	54-62

Следующим этапом являлся отбор осадочных фракций и их очистка методом перекристаллизации. На данном этапе удалось изолировать три вещества из фракций № 1; 32; 33 (рис. 29).



Рисунок 29 – Осадочные фракции колонки.

Во фракции №1 порошок белый кристаллический, во фракциях №32 и №33 пластинчатые кристаллы желтовато-белого цвета.

Чистота осаждённых веществ и их особенности химической природы на начальном этапе оценивали методом ТСХ в системе хлороформ : спирт этиловый (19 : 1) (рис. 30).

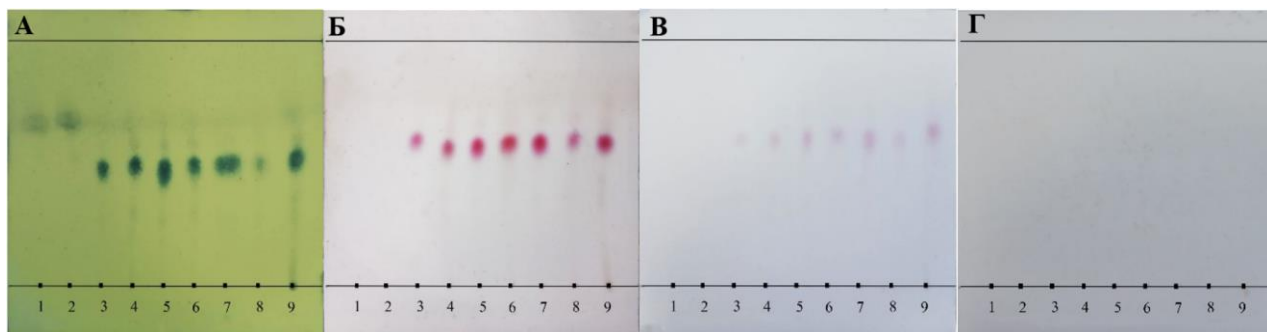


Рисунок 30 – Хроматограммы анализа хлороформных извлечений ш. дубравного:  
 А – детекция реактивом раствора ФМК; Б – детекция реактивом раствора серной кислоты; В – детекция реактивом раствора ФВК; Г – детекция реактивом раствора ДСК.

*Обозначения: 1- фракция №1; 2 – матричный раствор фракции №1;  
 3- фракция №32; 4 – матричный раствор фракции №32; 5- фракция №33;  
 6 – матричный раствор фракции №33; 7- фракция №34; 8 – матричный раствор фракции №34; 9 – хлороформный экстракт.*

Отсутствию окраски с раствором диазореактива в зоне абсорбции при  $R_f = 0,55$  (рис. 30 Г) позволило исключить фенольную природу анализируемых веществ. Розовая окраска пятен ТСХ пластинках после обработки 20% раствором серной кислоты при нагревании до  $100^\circ\text{C}$  позволила предположить тритерпеновую структуру (рис. 30 Б). Кроме того, обработка раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты окрашивало пятна в светло-розовый цвет, что позволила подтвердить результат с серной кислотой и исключить стериную структуру.

По окислительной реакции с раствором ФМК видно, что вещество первой фракции является алкановым соединением (рис. 30 А), что подтверждается нами далее по ИК-спектру (рис. 31).

В частности, при измерении ИК-спектра поглощения вещества первой фракции были обнаружены полосы поглощения, по которым можно предположить структурные фрагменты соединения (рис. 31) углеводородной связи  $2850$  и  $2957$   $\text{cm}^{-1}$  алканой и  $1652$  и  $1636$   $\text{cm}^{-1}$  алкеной природы.

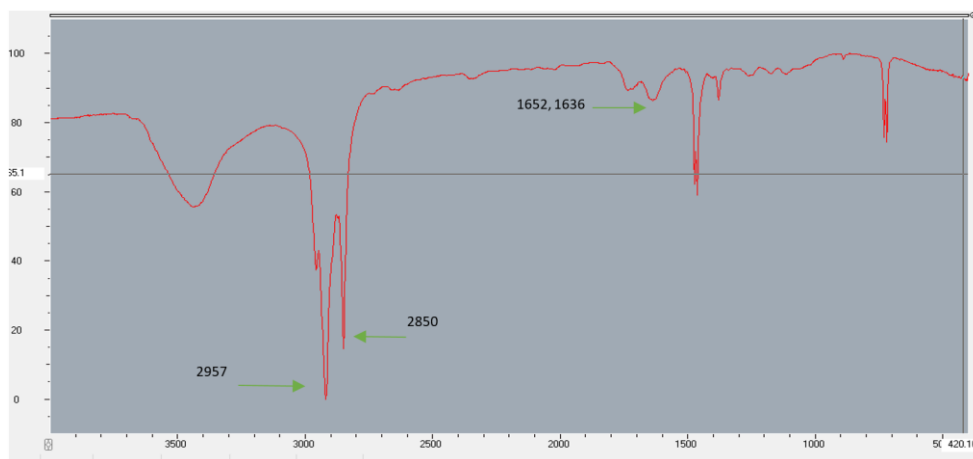


Рисунок 31 – ИК-спектр первой фракции.

Количественное определение суммы тритерпеноидов проводилось методом прямой спектрофотометрии объединенных 32, 33 и 34 фракций извлечения в концентрированной серной кислоте [3, 71, 97, 99] (рис. 32).

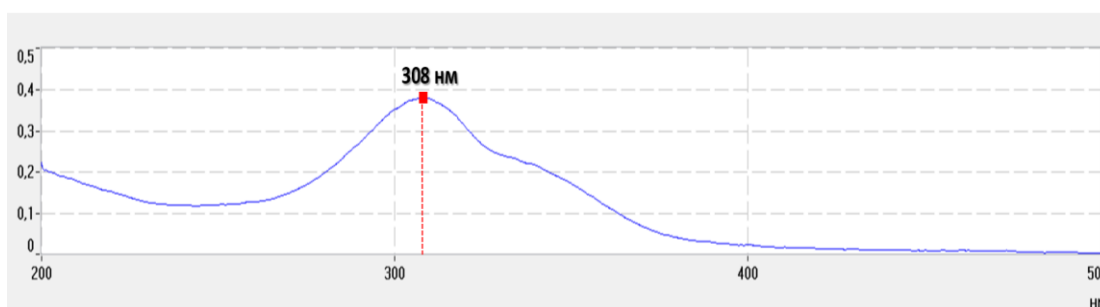


Рисунок 32 – Спектральная кривая поглощения объединенных 32, 33 и 34 фракций в среде концентрированной серной кислоте.

Обнаруженная спектральная характеристика свойственна ряду тритерпеноидов, в частности, олеаноловой кислоте [3, 71, 85]. Для количественной оценки тритерпеновых соединений (сапонинов) в анализируемых образцах сырья на начальном этапе рассчитали сумму тритерпеноидов в пересчете на олеаноловую кислоту. Определение велось при длине волны  $310 \pm 2$  нм [3, 71, 97, 99] с использованием литературных данных коэффициента экстинкции  $E_{1\text{ см}}^{1\%}$  составляющего 311 [3, 97, 99]. Рассчитывали содержание суммы тритерпеноидов в пересчете на олеаноловую кислоту в объединённых фракциях.

Содержание суммы тритерпеноидов в пересчёте на олеаноловую кислоту в объединённых фракциях составило  $23,23 \pm 0,1\%$ . Далее очищали доминирующее вещество в объединённых фракциях с помощью метода перекристаллизации и микроколоночной хроматографии. Для идентификации очищенного вещества получали его ЯМР-спектры и Масс-спектры (Приложения 4).

**Олеаноловая кислота.** Внешне кристаллы белого цвета, химического состава  $C_{30}H_{48}O_3$ , с температурой плавления  $302-304\text{ }^\circ\text{C}$  (спирт).

$^1\text{H}$ -ЯМР спектр «Bruker AV 500» (500 МГц, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 0,68 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -25), 0,75 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -26), 0,82 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -23), 0,89 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -24), 0,88 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -30), 1,04 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -29), 1,23 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -27), 1,4-2,0 (м, 23H), 2,12 (д, 1H, 10 Гц, H-18), 3,01 (м, 1H, H-3), 5,13 (с, 1H, H-12).

$^{13}\text{C}$ -ЯМР спектр «Bruker AV 500» (125,78 МГц, DMSO- $d_6$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , м.д.): C-1 (30,63), C-2 (23,32), C-3 (77,28), C-4 (36,88), C-5 (47,28), C-6 (18,45), C-7 (33,15), C-8 (39,62), C-9 (47,28), C-10 (38,68), C-11 (23,32), C-12 (124,00), C-13 (138,00), C-14 (40,45), C-15 (28,72), C-16 (23,73), C-17 (48,46), C-18 (40,12), C-19 ((47, 28), C-20 (30,63), C-21 (30,63), C-22 (33,15), C-23 (27,99), C-24 (21,54), C-25 (16,54), C-26 (17,38), C-27 (27,43), C-28 (178,00), C-29 (28,72), C-30 (23,32).

Масс-спектр: HR-ESI-MS,  $180\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $m/z$ : 457.3663  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,

Далее сравнивали хлороформные извлечения анализируемых видов рода *Salvia* L. с выделенной олеаноловой кислотой в системе хлороформ: спирт этиловый (19:1) (рис. 33).

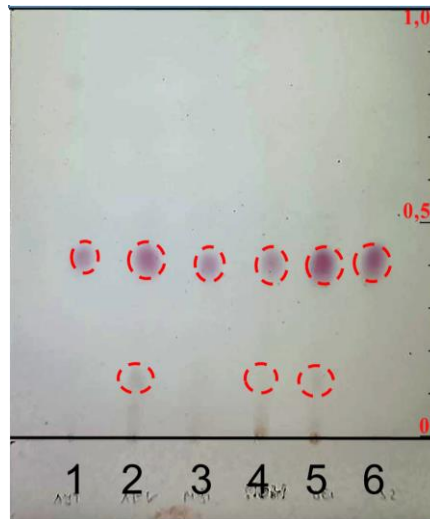


Рисунок 33 – Сравнительное ТСХ хлороформных извлечений из листьев представителей рода *Salvia* L. в системе растворителей хлороформ : спирт этиловый (19 : 1) после обработки 20% раствором серной кислотой.

Обозначения: 1 – ш. кустарникового; 2 – ш. лекарственного; 3 – ш. мутовчатого; 4 – ш. поникающего; 5 – ш. дубравного; 6 – объединенные фракции 32, 33, и 34 (олеаноловая кислота)

После обработки раствором серной кислоты во всех хлороформных извлечениях олеаноловая кислота детектируется малиновой окраской пятна с  $R_f \approx 0,4$ . Также в ш. поникающем, ш. лекарственном и ш. дубравном детектируется грязно-черное пятно с  $R_f \approx 0,15$ , предположительно соединение дитерпеновой структуры, особенно в ацетоновых извлечениях данных видах нами ранее доказано наибольшее содержание суммы дитерпенов в пересчете на карнозоловую кислоту (см. глава 4).

Для получения карнозоловой кислоты из листьев ш. мутовчатого дважды проводили обработку хлороформного экстракта в делительной воронке 10% раствором натрия гидрокарбоната в соотношении, равным объему полученного хлороформного экстракта, добавляли к объединенным водно-щелочным извлечениям разведенную хлористоводородную кислоту до  $pH \approx 3$ , обрабатывали дважды в делительной воронке *n*-гексаном в соотношении, равным объему водно-щелочных фракций, с объединенными гексановыми извлечениями проводили упаривание экстракта под вакуумом при температуре кипения *n*-гексана до

момента образования пересыщенного раствора, концентрированный жидкий экстракт высушивали на воздухе, полученные кристаллы собирали и подвергали вакуумной сушке [82].

Для идентификации природы кристаллов использовали ЯМР-спектроскопию и масс-спектрометрию. В результате структурного анализа вещества получили ЯМР-спектры и Масс-спектр (Приложение 3). Расшифровка  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектра «Bruker AV 500»,  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектра «Bruker AV 500», Масс-спектра: HR-ESI-MS позволила достоверно подтвердить структуру карнозоловой кислоты (Приложения 5).

#### Выводы к главе 4

1. В результате проведенного сравнительного изучения химического состава в стеблях и листьях видов рода *Salvia* L. доказано, что розмариновая кислота, олеаноловая кислота и  $\beta$ -ситостерин является маркерными компонентами, которые присущи большинству видам рода *Salvia* L., также цинарозид и карнозоловая кислота являются отличительным маркером для листьев ш. лекарственного в плане подтверждения подлинности ЛРС. Представляется целесообразным включение усовершенствованных ТСХ-методик с использованием СО цинарозида, СО розмариновой кислоты, СО карнозоловой кислоты, СО олеаноловой кислоты и СО  $\beta$ -ситостерина в фармакопейной статье. Установлено, что в стеблях исследуемых видов рода *Salvia* L. также присутствует розмариновая кислота, однако содержание флавоноидных компонентов в них значительно ниже по сравнению с листьями, что может служить диагностическим признаком листьев и использоваться для выявления недопустимого содержания стеблей в ЛРС ш. лекарственного. В результате сравнительных спектрофотометрических исследований установлено, что содержание флавоноидов в листьях представленных видов *Salvia* L. достоверно выше, чем в стеблях. Указанная методика включена в проект ФС «Шалфея лекарственного листа» для количественного определения флавоноидов.
2. Проведение сравнительного спектрофотометрического анализа дитерпеновых и тритерпеновых кислот в листьях видов рода *Salvia* L., показало, что наибольшее содержание суммы дитерпеновых кислот в пересчете на карнозоловую кислоту выявлено у листьев ш. кустарникового ( $8,57 \pm 0,03$  %) в листьях ш. лекарственного ( $4,39 \pm 0,05$  %) и ш. дубравного ( $4,26 \pm 0,04$  %), а наибольшее содержание тритерпеновых соединений в пересчете на олеаноловую кислоту в листьях ш. поникающего ( $12,05 \pm 0,05$  %) и ш. кустарникового ( $19,18 \pm 0,03$  %), а также в стеблях ш. мутовчатого ( $10,06 \pm 0,05$  %).
3. Проведено сравнительное изучение фенольных и дитерпеновых соединений методом ВЭЖХ исследуемых видов рода *Salvia* L., в результате чего

установлено высокое содержание розмариновой кислоты во всех видах, кроме ш. поникающего. Подтверждено наличие цинарозида во всех листьях изучаемых видов рода *Salvia* L., кроме ш. мутовчатого, рутина – в листьях ш. лекарственного, ш. поникающего и ш. кустарникового, карнозоловой кислоты – в листьях ш. мутовчатого и ш. лекарственного.

4. На основе результатов сравнительного исследования содержания эфирного масла и его компонентов из листьев пяти видов рода *Salvia* L., доказана специфичность компонентного состава эфирного масла *S. officinalis* L. по содержанию 1,8-цинеола. При этом выявлены компоненты эфирного масла, обладающие видовой специфичностью для ш. лекарственного: камфен (4,34%),  $\alpha$ -туйон (5,5%), камфора (13,18%), 1,8-цинеол (20,78%),  $\alpha$ -терпинеол (4,57%).
5. Впервые выделены и идентифицированы олеаноловая кислота из листьев ш. дубравного и карнозоловая кислота из листьев ш. мутовчатого.

## **ГЛАВА 5. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО И РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО**

Полученные результаты в ходе исследования, отраженные в предыдущих главах, послужили основанием для предложения изменений в ФС.2.5.0051 «Шалфея лекарственного листа» и подготовки проекта ФС на новую лекарственную форму – «Шалфея лекарственного листьев настойка».

### **5.1. Совершенствование стандартизации листьев шалфея лекарственного**

Сравнительный анализ привёл к выводу, что таксономический профиль химического состава (ТПХС) изученных видов рода *Salvia* L. является уникальным для каждого вида растения, в том числе комплекс групп БАВ внутри таксона для всех морфологических органов. ТПХС листьев ш. лекарственного содержит в себе комплекс веществ: цинеол, розмариновая кислота, олеаноловая кислота, цинарозид, рутин,  $\beta$ -ситостерин и карнозоловая кислота. Цинеол является хемоиндикатор, отличающий ш. лекарственный от близкородственных видов, определение только одного компонента не гарантирует подлинность таксона, т.к. данное вещество является доминирующим компонентом у других растений (эвкалипта, мирта и т.д.) [37, 66]. Совокупность остальных названных веществ ТПСХ - присуща большинству видов рода *Salvia* L., в том числе для фармакопейного представителя. К тому же, цинарозид и рутин являются хемомаркерными веществами для идентификации листьев от стеблей. Таким образом только при определении комплекса ТПХС возможно идентификация таксона.

С целью верификации подлинности сырья *Salvia officinalis* L. были задействованы хроматографические подходы, соответствующие стандартам актуальной Государственной фармакопеи. Согласно нормативным требованиям [23], ТСХ-анализ выступает базовым инструментом идентификации данного вида лекарственного растительного сырья. Методические аспекты и результаты

проведенных испытаний подробно освещены в четвертой главе настоящей диссертации. В работе предложены две системы элюентов, обеспечивающие высокую четкость разделения компонентов и позволяющие достоверно определить ключевые маркерные вещества в составе листьев шалфея.

Методики качественного ТСХ-анализа листьев *S. officinalis* L.

1. Для определения рутина, цинарозида, розмариновой кислоты.

На линию старта аналитической хроматографической пластинки Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ 100x150 мм наносят 5 мкл испытуемого раствора и рядом — по 10 мкл растворов СО цинарозида, СО рутина и СО розмариновой кислоты. Пластину с нанесёнными пробами сушат, помещают в камеру с ПФ: этилацетат – муравьиная кислота – вода (14:3:3) и хроматографируют восходящим способом. После прохождения растворителя около 10 см, пластинку вынимают и подсушивают. Обрабатывают алюминия хлорида раствором 3% в спирте 96%. На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции с голубой флуоресценцией на уровне адсорбции СО розмариновой кислоты со значением  $R_f$  около 0,9; зона адсорбции с жёлтой флуоресценцией на уровне адсорбции СО цинарозида со значением  $R_f$  около 0,65; зона адсорбции с жёлтой флуоресценцией на уровне адсорбции СО рутина со значением  $R_f$  около 0,45. Допускается наличие других зон адсорбции (табл 23). Далее пластинку обрабатывают раствором ДСК. При видимом свете на хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции со светло-бурой окраской на уровне адсорбции СО розмариновой кислоты со значением  $R_f$  около 0,9; зона адсорбции с жёлтой окраской на уровне адсорбции СО цинарозида со значением  $R_f$  около 0,65; зона адсорбции с жёлтой окраской на уровне адсорбции СО рутина со значением  $R_f$  около 0,45. Допускается наличие других зон адсорбции (табл 23).

Таблица 23 – Результаты детектирования испытуемого раствора с СО розмариновой кислоты, СО цинарозида и СО рутина при ТСХ

Наименование СО	Фактор подвижности	Детекция раствором $AlCl_3$ при $\lambda=365$ нм	Детекция раствором ДСК в видимом свете
Розмариновая кислота	$0,9 \pm 0,03$	голубое	светло-бурое

Цинарозид	0,65±0,03	жёлтое	жёлтое
Рутин	0,45±0,02	жёлтое	жёлтое

2. Для определения олеаноловой кислоты, карнозоловой кислоты и  $\beta$ -ситостерина

На линию старта аналитической хроматографической пластинки Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ 100x150 мм наносят 5 мкл испытуемого раствора и рядом —10 мкл растворов СО олеаноловой кислоты, СО  $\beta$ -ситостерина, СО карнозоловой кислоты. Пластинку с нанесёнными пробами сушат, помещают в камеру с ПФ: хлороформ – спирт этиловый (19:1). Хроматографируют восходящим способом. После прохождения растворителя около 10 см, пластину вынимают и подсушивают. обрабатывают 20% раствором серной кислоты, после чего просматривают в видимом свете.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции с ярко-малиновой окраской на уровне адсорбции СО олеаноловой кислоты со значением  $R_f$  около 0,40; зона адсорбции со слабо-розовой окраской на уровне адсорбции СО олеаноловой кислоты со значением  $R_f$  около 0,52; зона адсорбции с чёрной окраской на уровне адсорбции СО карнозоловой кислоты со значением  $R_f$  около 0,10. Допускается наличие других зон адсорбции (табл. 24)

Таблица 24 – Результаты детектирования испытуемого раствора с СО олеаноловой кислоты, СО  $\beta$ -ситостерина и СО карнозоловой кислоты при ТСХ

Наименование СО	Фактор подвижности	Детекция 20% раствором серной кислоты в видимом свете
Олеаноловая кислота	0,44±0,03	ярко-малиновое
$\beta$ -ситостерин	0,52±0,03	слабо-розовое
Карнозоловая кислота	0,10±0,03	чёрное

## 5.2. Разработка количественных методов анализа для листьев шалфея лекарственного

Ранее для листьев ш. лекарственного сумму флавоноидов определяли спектрофотометрическим методом с комплексообразованием  $AlCl_3$ , однако в качестве СО использовали рутин, лютеолин [39] или кверцетин [148], что на наш

взгляд нецелесообразно, так как в ш. лекарственном преобладающим флавоноидом для представителей рода *Salvia* L. является цинарозид, также подтверждает значение максимума поглощения дифференциального спектра в области  $\lambda = 400$  нм (рис. 15) (в главе 4 раздела 4.3.1.).

В ходе выполнения работы был проведен комплекс экспериментов по поиску рациональных условий экстракции флавоноидов из лиственной части шалфея лекарственного. Исследовалось влияние таких факторов, как крепость этилового спирта, температурный режим и продолжительность нагрева на водяной бане, размер частиц измельченного сырья, а также соотношение твердой и жидкой фаз. Согласно полученным данным (табл. 25), максимальный выход суммы флавоноидов зафиксирован при использовании 70%-го этанола в пропорции 1:30 (сырье:экстрагент). Оптимальными параметрами процесса стали: степень измельчения 2 мм и длительность экстрагирования в течение 60 минут.

Таблица 25 – Влияние различных параметров экстракции на полноту извлечения флавоноидов из листьев ш. лекарственного

№	Экстрагент (спирт этиловый)	Соотношение «сырье- экстрагент»	Время экстракции, мин	Степень измельчения, мм	Содержание флавоноидов в пересчете на цинарозид в абсолютно сухом сырье (в %)
<b>Концентрации экстрагента</b>					
	40 % спирт этиловый	1 : 30	45	2	1,45 ± 0,02
	60 % спирт этиловый				1,52 ± 0,03
	<b>70 % спирт этиловый</b>				<b>1,66 ± 0,02</b>
	80 % спирт этиловый				1,50 ± 0,04
	96 % спирт этиловый				1,06 ± 0,05
<b>Время экстракции</b>					

1.	70 % спирт этиловый	1:30	30	1	1,44 ± 0,04
2.			45		1,55 ± 0,05
3.			<b>60</b>		<b>1,66 ± 0,02</b>
4.			90		1,61 ± 0,05
5.			120		1,32 ± 0,04
<b>Степень измельчения</b>					
6.	70 % спирт этиловый	1:30	60	1	1,42 ± 0,04
7.				<b>2</b>	<b>1,66 ± 0,02</b>
8.				3	1,32 ± 0,05
9.				5	1,10 ± 0,04
<b>Соотношение сырья к части экстрагента</b>					
10.	70 % спирт этиловый	1:25	60	2	1,42 ± 0,03
11.		<b>1:30</b>	60	2	<b>1,66 ± 0,02</b>
12.		1:50	60	2	1,52 ± 0,05
13.		1:100	60	2	1,35 ± 0,05

*Исходный раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл 70 % спирта этилового. 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 60 минут. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий объем экстрагента до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр с красной полосой и остужают в течение 30 минут.

*Испытуемый раствор А.* 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 2 мл алюминия хлорида раствор 3 % в спирте 96 % и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (исследуемый раствор А).

*Раствор сравнения А.* 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96%.

*Исходный раствор СО цинарозида Б.* Около 0,02 г (точная навеска) СО цинарозида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 40 мл 70 % спирта этилового при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70 % спиртом этиловым до метки.

*Раствор СО цинарозида Б.* 2 мл исходного раствора СО цинарозида Б помещают в мерную колбу на 25 мл, добавляют 2 мл алюминия хлорида раствор 3 % в спирте 96 % и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 %.

*Раствор сравнения СО цинарозида Б.* 2 мл исходного раствора СО цинарозида Б помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96%.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора А через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 400 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения А.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО цинарозида Б в аналогичных условиях относительно раствора сравнения СО цинарозида Б.

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на цинарозид в сухом сырье в процентах(X) вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 2 \cdot 100}{A_0 \cdot m_x \cdot 100 \cdot 25 \cdot 1 \cdot (100 - W)} \cdot 100\%,$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

$A_0$  – оптическая плотность раствора СО цинарозида Б;

$m_x$  – навеска сырья, г;

$m_0$  – навеска СО цинарозида, г;

$W$  – влажность сырья, %.

Допускается вычислять содержание суммы флавоноидов в пересчёте на цинарозид с использованием удельного показателя поглощения комплекса цинарозида с алюминия хлоридом по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot 30 \cdot 25 \cdot 100}{1 \cdot 388 \cdot m_x \cdot (100 - W)},$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

388 – удельный показатель поглощения комплекса цинарозида с алюминия хлоридом при длине волны 400 нм ( $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ );

$m_x$  – навеска сырья, г;

$W$  – влажность сырья, %.

Валидационную оценку методики проводили в соответствии с ГФ РФ XV издания [23].

Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения взаимодействия цинарозида с алюминия хлорида раствором 3 % в спирте 96 % листьев ш. лекарственного и раствора СО цинарозида с алюминия хлорида раствором 3 % в спирте 96 % (рис. 15).

Линейность методики определяли для серии раствора цинарозида (с концентрациями в диапазоне от 3,25 до 12,5 мкг/мл) при длине волны 400 нм. Коэффициент детерминации составил 0,9981 (рис. 34; табл. 26).

При изучении линейной зависимости вида  $y = bx + a$ , коэффициент корреляции составил 1, следовательно, данную методику можно использовать для анализа суммы флавоноидов в листьях ш. лекарственного в пересчете на цинарозид в указанном диапазоне концентраций (рис. 34; табл. 26).

Таблица 26 – Исходные данные цинарозида для оценки линейности методики

№ п/п	Концентрация СО цинарозида, мкг/мл	Значение оптической плотности, е.о.п. (среднее значение из трех последовательных измерений)
1	3,25	0,1151
2	4,25	0,1472

3	6,25	0,2172
4	8,25	0,2754
5	9,25	0,3195
6	12,5	0,4123

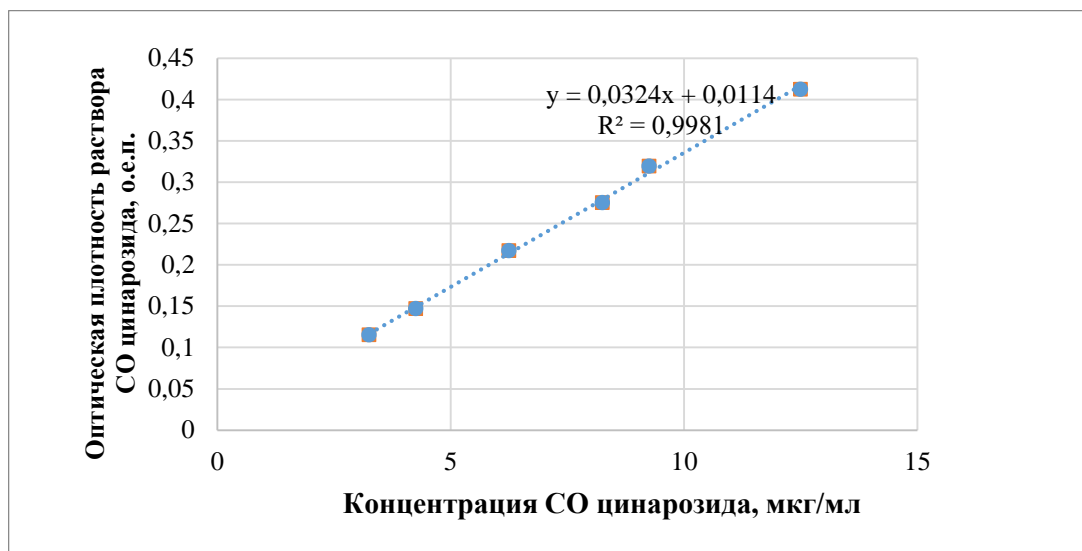


Рисунок 34 – Градуировочный график зависимости оптической плотности испытуемого раствора от концентрации цинарозида методом спектрофотометрии

Метрологические характеристики методик количественного определения содержания суммы флавоноидов в водно-спиртовом извлечении из листьев ш. лекарственного представлены в таблице 27. Ошибка единичного определения суммы флавоноидов в листьях ш. лекарственного с доверительной вероятностью 95% составляет  $\pm 1,11\%$  (табл. 27).

Таблица 27 – Результаты оценки прецизионности методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях ш. лекарственного (уровень повторяемости)

n	f	$\bar{X},\%$	$S^2$	S	$S_{\bar{X}}$	P, %	t (P, f)	$\pm\Delta X$	$\pm\Delta\bar{X}$	E, %	$\bar{E},\%$
11	10	1,66	0,000749	0,02737	0,00825	95	2,23	0,06	0,02	1,11	3,68

Таким образом, исходя из данных валидационной оценки эксперимента, можно сделать вывод о пригодности использования данной методики для количественной оценки суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид.

Как отмечено ранее в литературе описан один спектрофотометрический способ определения суммы дитерпенов, предложенный профессором И.Н. Зилфикаровым, и в дальнейшем модернизированный А.С. Макаровой. Однако в данном методе имеется многостадийность пробоподготовки, что усложняет процесс и увеличивает ошибку результата. Нами предложен метод в основе спектрофотометрического определения дитерпеновых кислот в среде концентрированной серной кислоты.

По литературным данным для карнозоловой кислоты качественной реакцией является взаимодействие с серной кислотой [39]. Нами была получена спектральная кривая СО карнозоловой кислоты в среде концентрированной серной кислоты (рис. 35).

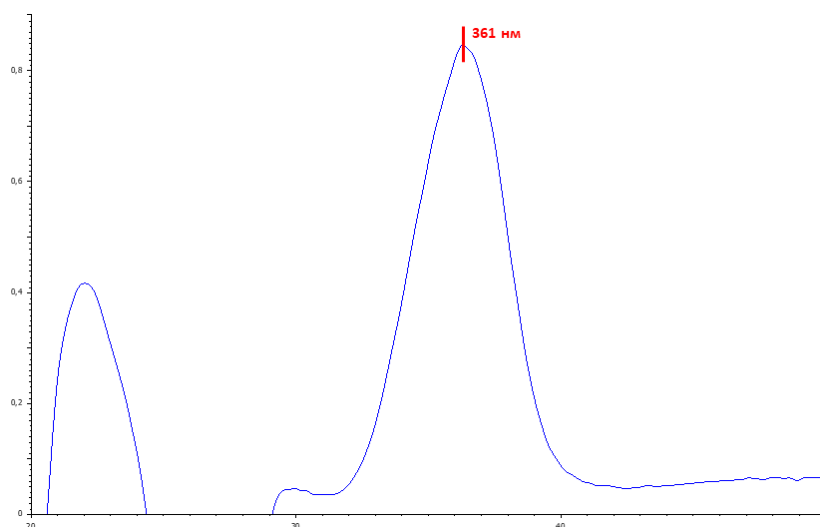


Рисунок 35 – Спектральная кривая карнозоловой кислоты в серной кислоте

Отмечено, что в течение 10 мин после приготовления раствора СО карнозоловой кислоты в среде концентрированной серной кислоты максимум поглощения стабильный. После 10 мин происходит сдвиг спектральной кривой в область 350 нм.

С целью установления оптимальных параметров экстракции, обеспечивающих прецизионность анализа суммарного содержания дитерпеновых кислот в листьях шалфея лекарственного, нами был выполнен комплекс экспериментальных исследований. В ходе работы изучалось влияние ключевых факторов: концентрации этилового спирта, температурного режима, длительности нагрева на водяной бане, степени измельчения растительного сырья и гидромодуля (соотношения сырья к экстрагенту). Установлено, что наибольшая селективность и эффективность извлечения дитерпеновых соединений достигается при использовании 96% этанола. Выявлено, что применение спирта более низкой концентрации (40% и 70%) приводит к соэкстракции флавоноидов, которые, вступая в реакцию с серной кислотой, вызывают ложное завышение итоговых показателей. Сводные данные по изученным факторам экстракции систематизированы в таблице 28.

Таблица 28 – Влияние времени экстракции и степени измельченности на полноту извлечения дитерпеновых кислот из листьев ш. лекарственного

№	Экстрагент	Соотношение «сырье-экстрагент»	Время экстракции, мин	Степень измельчения, мм	Содержание дитерпеновых соединений в пересчете на карнозоловую кислоту в абсолютно сухом сырье (в %)
<b>Время экстракции</b>					
14.	96 % этиловый спирт	1:30	30	1	3,51 ± 0,04%
15.			45		4,13 ± 0,05%
16.			<b>60</b>		<b>4,39 ± 0,05%</b>
17.			90		4,30 ± 0,05%
18.			120		4,29 ± 0,04%
<b>Степень измельчения</b>					
19.	96 %	1:30	60	1	3,80 ± 0,04%
20.	этиловый			<b>2</b>	<b>4,39 ± 0,05%</b>
21.	спирт			3	4,21 ± 0,05%

22.				5	$3,90 \pm 0,04\%$
<b>Соотношение сырья к части экстрагента</b>					
23.	96 % этиловый спирт	1:25	60	2	$4,01 \pm 0,03\%$
24.		<b>1:30</b>	60	2	<b><math>4,39 \pm 0,05\%</math></b>
25.		1:50	60	2	$4,31 \pm 0,04\%$
26.		1:100	60	2	$4,30 \pm 0,04\%$

В результате исследования разработана методика количественного анализа дитерпеновых соединений в листьях ш. лекарственного.

*Методика: Исходный раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл 96 % спирта этилового. 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 60 минут. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий объём экстрагента до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр с красной лентой и остужают в течение 30 минут.

*Испытуемый раствор А.* 5 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, объём раствора доводят спиртом этиловым 96 % до метки. Аликвоту 1 мл упаривают в фарфоровой чашке на водяной бане до сухого остатка. К сухому остатку добавляют 5 мл концентрированной серной кислоты и переносят в мерную колбу на 25 мл. Данную процедуру повторяют 3 раза. Объём раствора доводят концентрированной серной кислотой до метки.

*Раствор сравнения А.* Концентрированный раствор серной кислоты.

*Исходный раствор СО карнозоловой кислоты Б.* Около 0,02 г (точная навеска) СО карнозоловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, объём раствора доводят спиртом этиловым 96 % до метки. 1 мл аликвоты помещают в мерную колбу на 25 мл, доводят объём раствора спиртом этиловым 96 % до метки. 2 мл аликвоты упаривают в фарфоровой чашке на водяной бане до

сухого остатка. К сухому остатку добавляют 5 мл концентрированной серной кислоты и переносят в мерную колбу на 25 мл. Данную процедуру повторяют 3 раза. Объем раствора доводят концентрированной серной кислотой до метки.

*Раствором сравнения СО карнозоловой кислоты Б* является концентрированная серная кислота.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО карнозоловой кислоты Б в первые 10 мин на спектрофотометре при длине волны 361 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения А.

Содержание суммы дитерпенов в пересчёте на карнозоловую кислоту в сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 100}{A_0 \cdot m_x \cdot 50 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 5 \cdot (100 - W)} \cdot 100\%,$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

$A_0$  – оптическая плотность раствора СО карнозоловой кислоты Б;

$m_x$  – навеска сырья, г;

$m_0$  – навеска СО карнозоловой кислоты, г;

$W$  – влажность сырья, %.

При отсутствии СО карнозоловой кислоты допускается вычислять расчет содержания суммы дитерпенов по экспериментально установленному значению удельного показателя поглощения:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100}{m_x \cdot 609,75 \cdot 5 \cdot (100 - W)},$$

где  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А;

609,75 – удельный показатель поглощения комплекса олеаноловой кислоты Б при взаимодействии с концентрированной серной кислотой при длине волны 361 нм ( $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ );

$m_x$  – точная навеска сырья, г;

$W$  – влажность сырья, %.

Критерием оценки аналитической методики является валидационная оценка. Валидацию методики проводили в соответствии с ГФ РФ XV издания [23].

Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения взаимодействия карнозоловой кислоты в серной кислоте листьев ш. лекарственного и раствора СО карнозоловой кислоты в серной кислоте (рис. 18 и 35).

Линейность методики определяли для серии раствора карнозоловой кислоты в серной кислоте (с концентрациями в диапазоне от 2,12 до 16,5 мкг/мл) при длине волны 361 нм. Коэффициент детерминации составил 0,9982 (рис. 36; табл. 29).

При изучении линейной зависимости вида  $y = bx + a$ , коэффициент корреляции составил 1, следовательно, данную методику можно использовать для анализа суммы дитерпеновых соединений в листьях ш. лекарственного в пересчете на карнозоловую кислоту в указанном диапазоне концентраций (рис. 36; табл. 29).

Таблица 29 – Исходные данные для оценки линейности методики

№ п/п	Концентрация СО карнозоловой кислоты, мкг/мл	Значение оптической плотности, е.о.п. (среднее значение из трех последовательных измерений)
1	2,12	0,1399
2	4,24	0,2850
3	10,6	0,5931
4	16,5	0,9189

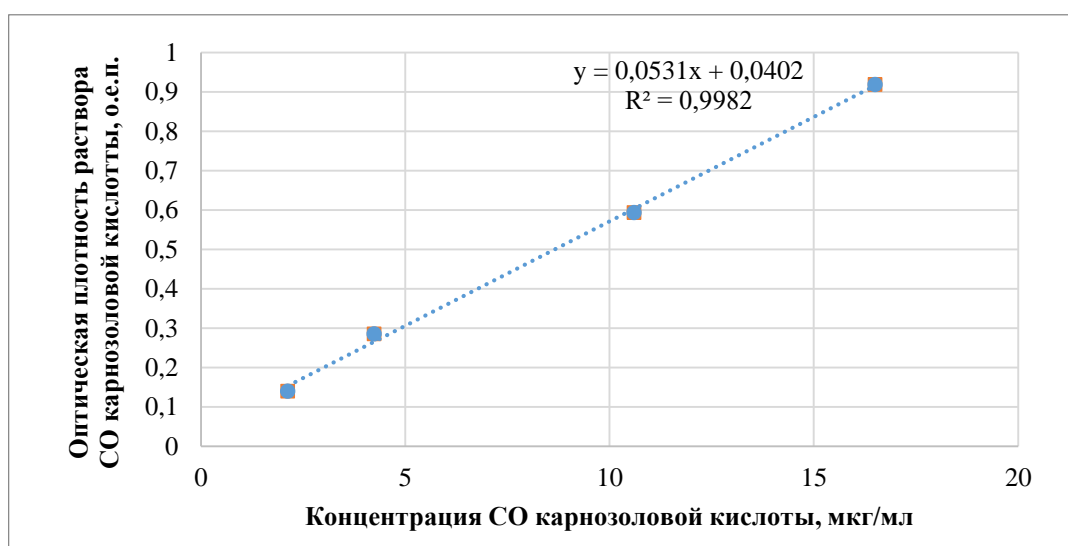


Рисунок 36 – Градуировочный график зависимости оптической плотности испытуемого раствора от концентрации карнозоловой кислоты методом спектрофотометрии

В таблице 30 представлены метрологические характеристики методик количественного определения содержания суммы дитерпенов пересчете на карнозоловую кислоту в водно-спиртовом извлечении из листьев ш. лекарственного. Ошибка единичного определения суммы дитерпеновых кислот в листьях ш. лекарственного с доверительной вероятностью 95% составляет  $\pm 1,22\%$  (табл. 30).

Таблица 30 – Результаты оценки прецизионности методики количественного определения суммы дитерпеновых соединений в листьях ш. лекарственного (уровень повторяемости)

n	f	$\bar{X},\%$	$S^2$	S	$S_{\bar{X}}$	P, %	t (P, f)	$\pm\Delta X$	$\pm\Delta\bar{X}$	E, %	$\bar{E},\%$
11	10	4,39	0,00636	0,07978	0,0241	95	2,23	0,17	0,05	1,22	4,04

Следовательно, результаты проведенной валидации подтверждают возможность применения данной методики для количественного определения суммы дитерпеновых кислот (в эквиваленте карнозоловой кислоты).

С учётом рационализации методов анализа уместно раствор испытуемый раствор А метода анализа дитерпенов в пересчете на карнозоловую кислоту использовать также и для измерения содержания тритерпеноидов в пересчете на олеаноловую кислоту. Для этого, в процессе съёмки оптической плотности раствора испытуемого раствора А в первые 10 мин на спектрофотометре при длине волны 361 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения А, также снимают оптическую плотность раствора СО олеаноловой кислоты В при длине волны 308 нм.

*Приготовление исходного раствора СО олеаноловой кислоты В.* Около 0,02 г (точная навеска) СО олеаноловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора спиртом этиловым 96 % до метки. 1 мл аликвоты помещают в мерную колбу на 25 мл, доводят объем раствора спиртом этиловым 96 % до метки. 2 мл аликвоты мл упаривают в фарфоровой чашке на

водяной бане до сухого остатка. К сухому остатку добавляют 5 мл концентрированной серной кислоты и переносят в мерную колбу на 25 мл. Данную процедуру повторяют 3 раза. Объём раствора доводят концентрированной серной кислотой до метки.

*Раствором сравнения СО олеаноловой кислоты В* является концентрированная серная кислота.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора А в первые 10 мин на спектрофотометре при длине волны 308 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения А.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО олеаноловой кислоты В в первые 10 мин на спектрофотометре при длине волны 308 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения А.

Содержание суммы тритерпеноидов в пересчёте на олеаноловую кислоту в сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 100}{A_0 \cdot m_x \cdot 50 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 5 \cdot (100 - W)} \cdot 100\%,$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

$A_0$  – оптическая плотность раствора СО олеаноловой кислоты В;

$m_x$  – навеска сырья, г;

$m_0$  – навеска СО олеаноловой кислоты, г;

$W$  – влажность сырья, %.

При отсутствии СО олеаноловой кислоты допускается вычислять расчет содержания суммы тритерпеноидов по экспериментально установленному значению удельного показателя поглощения:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100}{m_x \cdot 609,75 \cdot 5 \cdot (100 - W)}$$

где  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А;

311 – удельный показатель поглощения комплекса олеаноловой кислоты при взаимодействии с концентрированной серной кислотой при длине волны 308 нм ( $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ );

$m_x$  – точная навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

### **5.3 Разработка методик стандартизации препаратов на основе листьев шалфея лекарственного**

На основании результатов микробиологических исследований выявили, что извлечение из листьев ш. лекарственного на спирте этиловом 40 % имеет высокую активность по сравнению с извлечениями других экстрагентами (см. главу 5), поэтому в качестве оптимального экстрагента для настойки из листьев ш. лекарственного взят спирт этиловый 40 %.

Следующим этапом диссертационной работы стало разработка методик качественного и количественного анализа препаратов на основе листьев ш. лекарственного.

#### ***Анализ настойки на основе листьев ш. лекарственного***

Согласно ранее известной трактовке в разрезе определения ТПХС в ЛРС и препаратов. для качественного контроля настойки из листьев шалфея лекарственного на спирте этиловом 40% целесообразно использовать СО: цинарозида, рутина, розмариновой кислоты, цинеола, карнозоловой кислоты.

Необходимо отметить, что ТСХ-анализ дитерпенов в сравнении с СО карнозоловой кислоты описывался рядом авторов [40, 144]. При этом большинство исследователей склонны трактовать ситуацию экстрагирования в полярных растворителях как фактор деструкции карнозоловой кислоты, что снижает актуальность её использования в качестве СО [30, 121, 159, 169].

В целях подтверждения детектирование карнозоловой кислоты из ш. лекарственного сравнивали хроматографические профили извлечений растворителями различной полярности (рис.37).

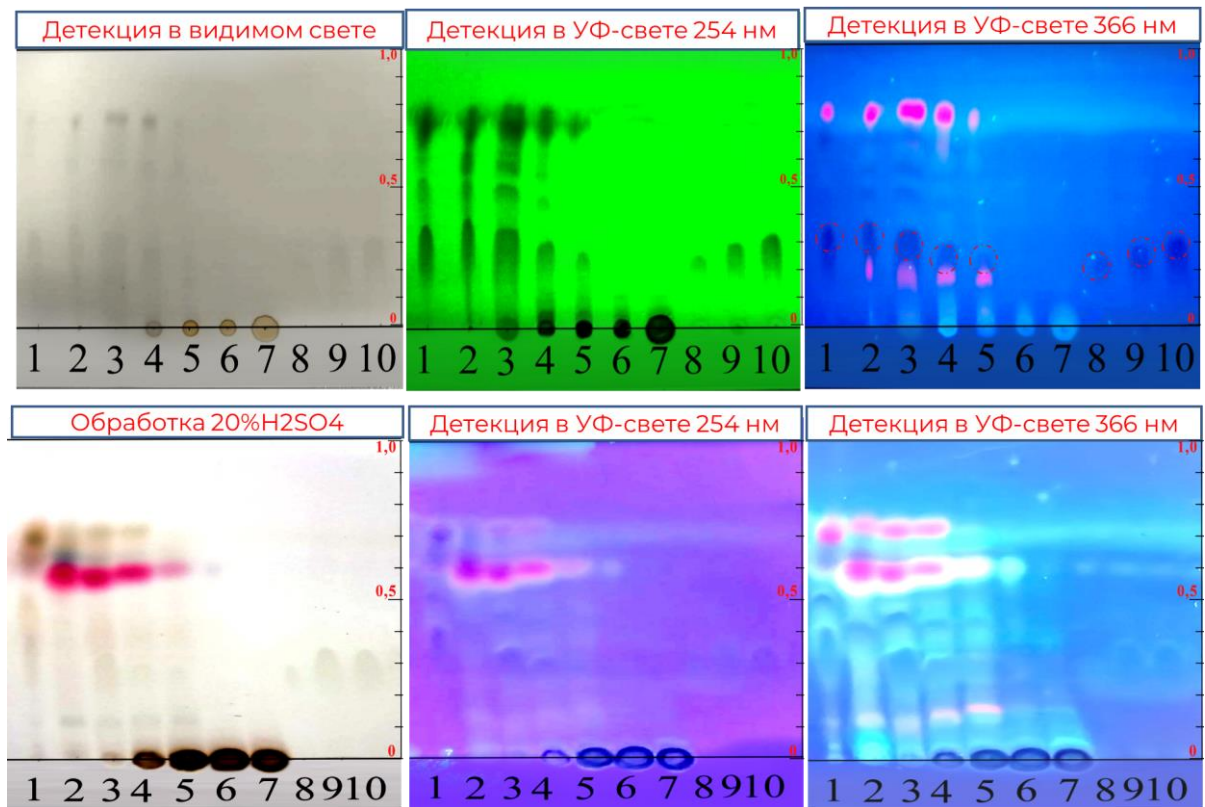


Рисунок 37 – Хроматографические профили извлечений из листьев ш. лекарственного в системе растворителей хлороформ : спирт этиловый (9 : 1).  
 Обозначения: 1 – гексановое; 2 – хлороформное; 3 – ацетоновое; 4 – 96% настойки; 5 – 70% настойки; 6 – 40% настойки; 7 – настой; 8-10 – спиртовой раствор карнозоловой кислоты (8 - 1 касание, 9 – 3 касания, 10 – 5 касаний)

Хроматографическое разделение водно-спиртовых извлечений с различной полярностью на фоне СО карнозоловой кислоты показал, что искомый дитерпен детектируется в УФ-свете при длине волны 254 нм и длине волны 365 нм, как до обработки ТСХ-пластинок  $R_f \approx 0,25-0,3$ , так и после обработки окислителем ( $H_2SO_4$ ). Однако после полной деструкции пятна карнозоловой кислоты и его деструкторов диагностируются хуже.

Отмечено, что наилучший результат разделения показывают извлечения из листьев ш. лекарственного на ацетоне и 96% спирте этиловом. Необходимо подчеркнуть, что гексановые извлечения также позволяют растворить данную группу веществ, однако плохо делятся на ТСХ пластине, что может объясняться наличием сопутствующих липофильных структур.

В 40% спирте этиловом и в воде карнозоловая кислота в чистом виде не экстрагируется, что подтверждается также нашим исследованием. По известным данным производные карнозоловой обладают аналогичной с ней активностью [39, 40, 105, 139, 150], поэтому для определения наличия карнозоловой кислот целесообразнее подтверждать по её деструктатам.

Следующим этапом исследования являлся подбор условий детектирования карнозоловой кислоты в настойке из листьев ш. лекарственного на 40 % спирте этиловом. На хроматографическую пластинку наносили настойку и карнозоловую кислоту в трёх средах с различной кислотностью: нейтральная ( $\text{pH} = 7$ ), щелочная ( $\text{pH} = 9$ ) и кислотная ( $\text{pH} = 4$ ). В качестве нейтральной среды для СО карнозоловой кислоты использовали 40% спирт этиловый. Для ощелачивания СО карнозоловой кислоты и исследуемой настойки добавляли 10% раствор аммиака в соотношении 1:10. Кислая среда достигалась путём добавления в пробы СО карнозоловой кислоты/настойки ледяной уксусной кислоты в соотношении 1:10. Несмотря на гидрофильность настойки элюирование проводили в агликоновых системах растворителей хлороформ : спирт этиловый (9 : 1) и хлороформ : спирт этиловый (19 : 1) (рис. 38).

Детекцию зон адсорбции на хроматограммах осуществляли при облучении ультрафиолетом с длиной волны 365 нм. В профилях щелочных проб настойки и дитерпеновой фракции визуализируются два пятна, обладающие интенсивным голубым свечением. При использовании элюента хлороформ — этиловый спирт в пропорции 9:1 значения  $R_f$  составили приблизительно  $R_f \approx 0,58$  и  $0,66$ , тогда как в системе с соотношением 19:1 данные показатели находились на уровне  $R_f \approx 0,08$  и  $0,15$  соответственно.

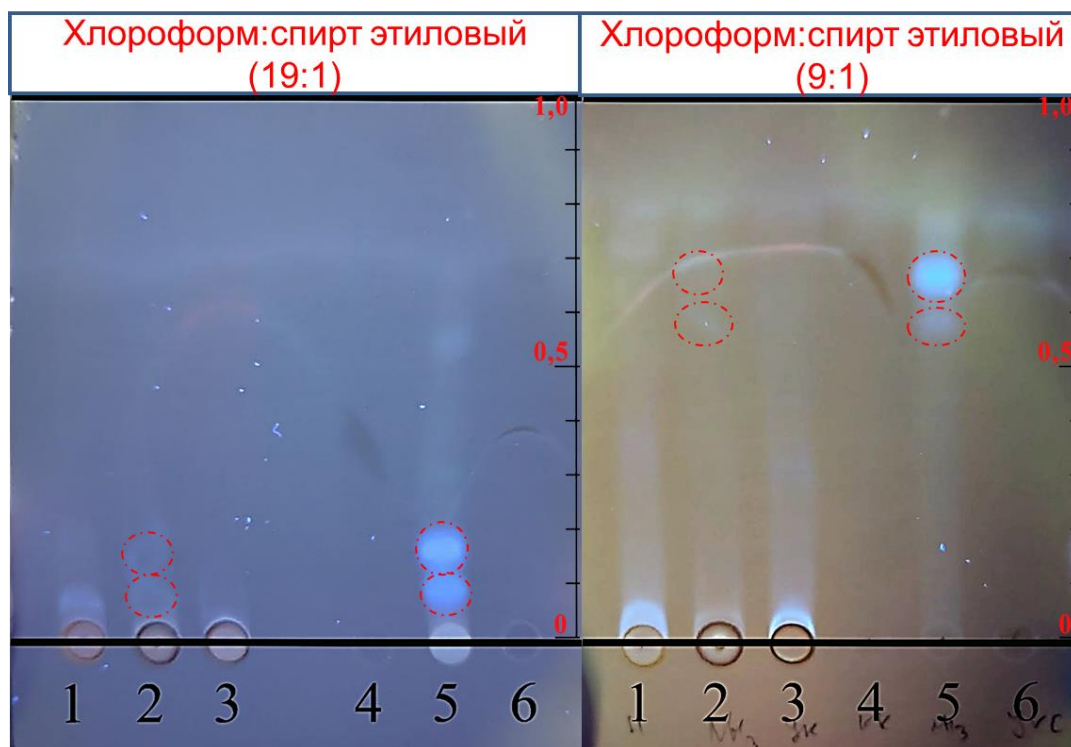


Рисунок 38 – Хроматографические профили анализируемых образцов при длине волны 365 нм

*Обозначения: 1 – настойка на 40% спирте этиловом ш. лекарственный; 2 – настойка на 40% спирте этиловом из листьев ш. лекарственного с аммиаком; 3 – настойка на 40% спирте этиловом из листьев ш. лекарственного с уксусной кислотой; 4 – СО карнозоловой кислоты; 5 – СО карнозоловой кислоты с аммиаком; 6 – СО карнозоловой кислоты с уксусной кислотой*

В результате чего сделан вывод о перспективности метода детекции карнозоловой кислоты в сырье ш. лекарственного в щелочной среде и может быть рассмотрен как альтернативный метод при подтверждении подлинности ЛРС ш. лекарственного. Нами данный результат включен в проект ФС «Шалфея лекарственного листьев настойка»

Следующим нашим этапом было проведено исследование на подтверждения наличия карнозоловой кислоты в настойке из листьев ш. лекарственного на 40% спирте этиловом методом добавок ВЭЖХ-анализа в системе ацетонитрил : вода (6:4) (рис. 39).

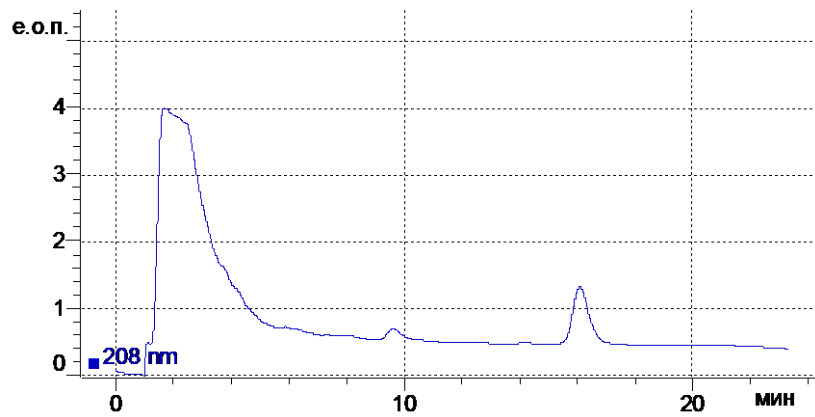


Рисунок 39 – Хроматографический профиль настойки 40% из листьев ш. лекарственного (система 6:4 – ацетонитрил : вода)

По хроматографическому профилю настойки из листьев ш. лекарственного на спирте этиловом 40% не подтверждается содержание карнозоловой кислоты (рис. 26 и рис. 39). Так как, ранее по результатам собственного ТСХ-анализа, и литературным данным, выявлено, что основной дитерпен в л. шалфея лекарственного – карнозоловая кислота нестабильный в гидрофильных растворителях, для проведения ВЭЖХ-анализа применили пробоподготовку с обработкой щёлочью (глава 4 раздел 4.4.2).

Для ВЭЖХ-анализа настойки на 40% спирте этиловом из листьев ш. лекарственного провели пробоподготовку по методу проф. И.Н. Зилфикарова (рис. 40) [41].

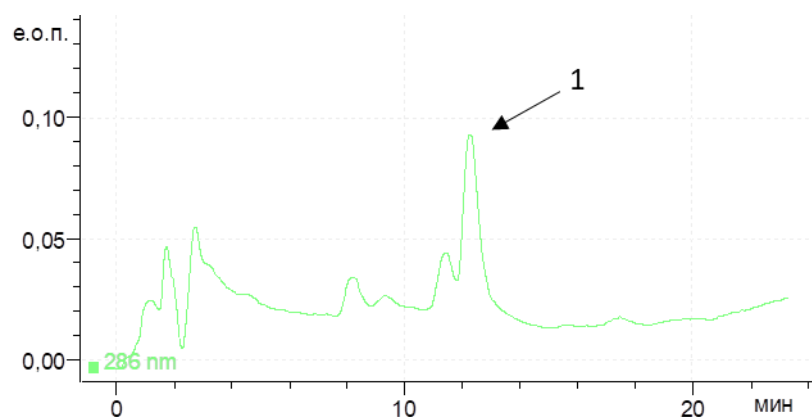


Рисунок 40 – Хроматографический профиль настойки на 40% спирте этиловом из листьев ш. лекарственного после обработки в системе ацетонитрил : вода (6 : 4).

Обозначение: 1 – карнозоловая кислота

По хроматографическому профилю настойки из листьев ш. лекарственного на спирте этиловом 40% виден пик восстановленной формы карнозоловой кислоты с временем удерживания 11,3 мин, что подтверждает наличие данного дитерпена в препарате.

Таким образом по результату ВЭЖХ-анализа подтверждается целесообразность применения ТСХ-анализа для определения карнозоловой кислоты в настойке. На основании полученных результатов разработан проект ФС «Шалфея лекарственного листьев настойка» (Приложения 6).

### *Анализ сиропов на основе листьев ш. лекарственного*

С целью разработки качественной методики контроля фруктозного (Сироп № 3), сорбитного (Сироп № 1) и сахарного (Сироп № 2) сиропов, содержащих настойку на 40% спирте этиловом из листьев ш. лекарственного, нами проводился хроматографический анализ в системе растворителей хлороформ : спирт этиловый (9 : 1) с пробоподготовкой жидко-жидкостной экстракцией ацетоном (рис. 41).

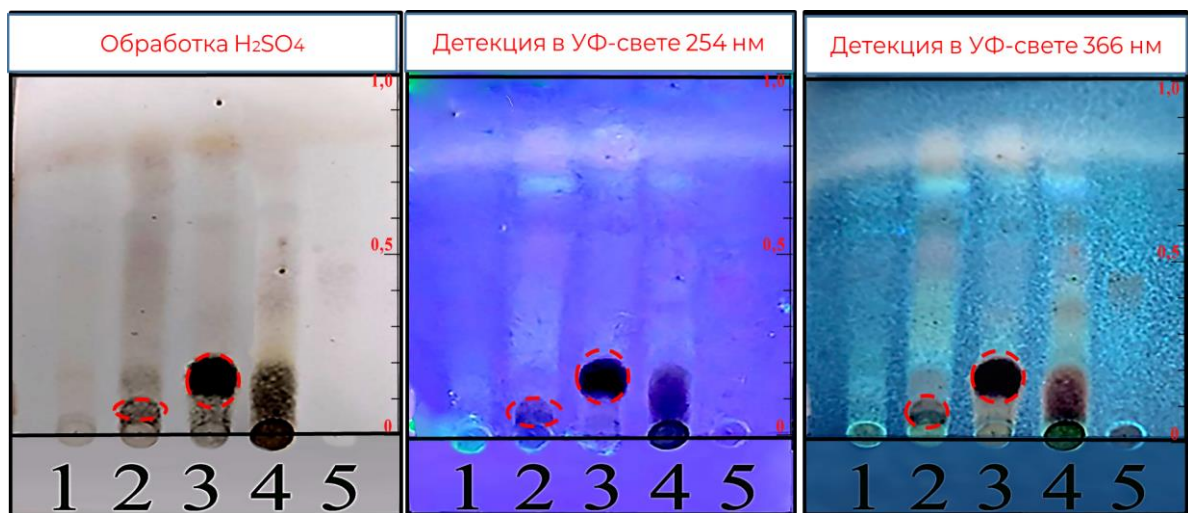


Рисунок 41 – Хроматографические профили анализируемых образцов в системе растворителей хлороформ : спирт этиловый (9 : 1)

Обозначения: ацетоновое извлечение: 1 – сироп № 1; 2 – сироп № 2; 3 – сироп № 3; 4 – 40% настойка; 5 – РСО карнозоловой кислоты

При этом, в следствии окисления углеводов сахара детектируются черными пятнами с  $R_f \approx 0,05$  и фруктоза с  $R_f \approx 0,15$  после обработки 20% раствором серной кислоты (рис. 41).

Классический метод пробоподготовки имеет недостаток, заключающийся в экстрагировании дисахаридов ацетоном сиропной основы [23].

Нами предложен хроматографический метод пробоподготовки для качественного анализа всех сиропов, позволяющий избежать попадания углеводов в анализируемую пробу.

Для этого образцы сиропов и настойки наносили отдельно на порции силикагеля марки КСК измельченного (фракция 0,05-0,10 мм, ТУ 6-09-39-23-86, производитель: ООО «ИМИД», Россия). Сорбированные сиропы и настойку разделяли на фракции методом препаративной колоночной хроматографии. Элюирование вели в градиентном режиме с увеличения полярности элюентов от хлороформа в спирт этиловый в результате было получено по пять фракций.

Таблица 31 – Ход элюирования в условиях колоночной хроматографии

Состав элюентов, об. %		Объем элюента, мл	Номер фракции
Хлороформ, %	Спирт этиловый, %		
100	0	50	1
90	10	50	2
70	30	50	3
60	40	50	4
50	50	50	5

Полученные фракции сиропов сравнивали с фракциями настойки хроматографическим методом в системе растворителей хлороформ : спирт этиловый (9 : 1) После обработки серной кислотой в двух первых фракциях сиропа и настойки детектируется пять зон абсорбции в виде четырех желтых пятен

фенольных соединений с  $R_f \approx 0,4$ ;  $0,59$ ;  $0,7$  и  $0,71$ , также синего пятна  $R_f \approx 0,48$ . При этом пятно с  $R_f \approx 0,40$  во фракциях № 2 настойки и № 2 фруктозного сиропа имеет схожий характер окраски и люминесценции с СО лютеолина с  $R_f \approx 0,42$ . (рис. 42).

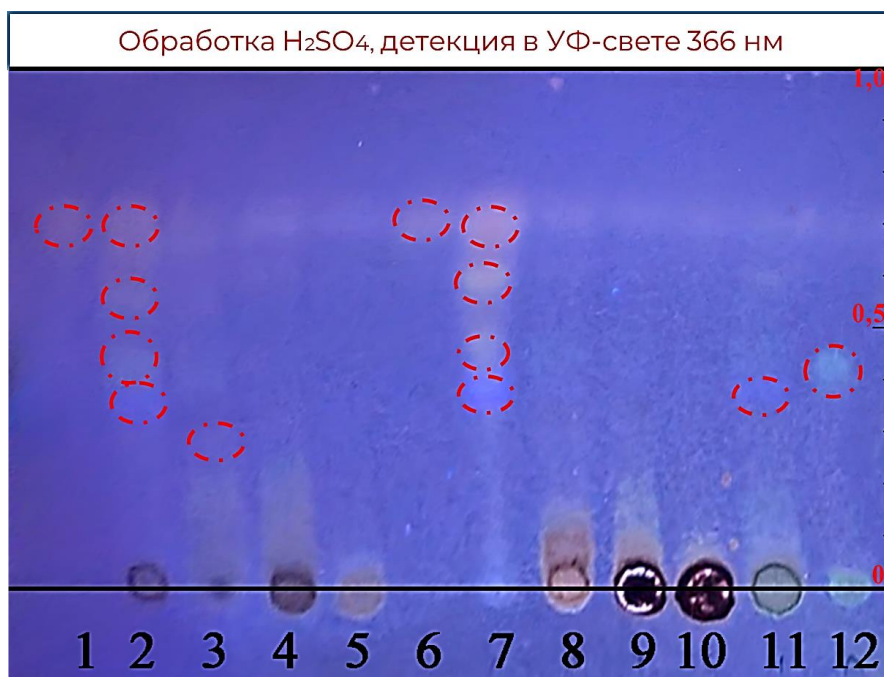


Рисунок 42– Хроматографический профиль образцов в системе растворителей  
хлороформ : спирт этиловый (9 : 1)

Обозначения: фракции 40% настойки из листьев ш. лекарственного: 1 – № 1; 2 – № 2; 3 – № 3; 4 – № 4; 5 – № 5; фракции фруктозного сиропа: 6 – № 1; 7 – № 2; 8 – № 3; 9 – № 4; 10 – № 5; 11 – 40% настойка; 12 – СО лютеолина

Углеводная часть элюируется в более полярных растворителях и не мешает детекции, обнаруживаясь в следующих фракциях (рис. 42). В результате разработанная альтернативная методика более достоверна и воспроизводима

Таким образом, для качественного анализа сиропов предложена пробоподготовка с использованием колоночной хроматографии, где в качестве элюента используется смесь хлороформа и спирта этилового в соотношении 9 : 1 и СО лютеолина, с последующим нанесением на хроматографические пластинки.

## Выводы к главе 5

1. Повышена надежность идентификации листьев ш. лекарственного за счёт разработанных методик, позволяющих точно определить подлинность путем выявления уникальных биохимических маркеров, что минимизирует риск контаминации и ошибок при производстве лекарственных средств на основе листьев ш. лекарственного.
2. Методы количественного определения основных действующих веществ ТПХС обеспечивают контроль содержания активных ингредиентов в готовом продукте, гарантируя стабильность состава препаратов и, следовательно, постоянство терапевтического эффекта.
3. Создание стандарта на настойку ш. лекарственного открывает возможности для разработки новых препаратов, расширяя спектр лечебных средств на основе этого растения.
4. Оптимизированы процессы и стандартизированные процедуры обработки сырья и производства препаратов снижают вероятность технологических сбоев и повышают эффективность производственного процесса.
5. Предлагаемые стандарты отвечают международным нормам и стандартам Государственной Фармакопеи РФ, повышая конкурентоспособность отечественных производителей на международном рынке.
6. Разработана методика ТСХ-определения карнозоловой кислоты в извлечениях из листьев ш. лекарственного, полученных на полярных растворителях, в том числе в 40% настойке.
7. Впервые для листьев ш. лекарственного разработана методика количественного определения суммы дитерпенов в пересчете на карнозоловую кислоту в среде концентрированный серной кислоты.

## ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *SALVIA* L.

Противогрибковая активность видов рода *Salvia* L. ранее изучалась многими учёными [118, 128, 154, 167]. В частности, турецкими исследователями была доказана противогрибковая активность ш. мутовчатого в отношении *Candida albicans*, *Candida glabrata* и *Saccharomyces cerevisiae* [154]. Учеными из Бразилии была подтверждена противогрибковая активность эфирного масла листьев ш. лекарственного в отношении *Botrytis cinerea*, *Candida glabrata*, *Candida albicans*, *Candida krusei* и *Candida parapsilosis* [118, 128]. Кроме того, для извлечения ш. лекарственного на спирте этиловом 80% был доказан противогрибковый эффект в отношении *Aspergillus flavus* и *Aspergillus fumigatus*, а также его отсутствие в отношении *Aspergillus niger* [167]. Однако противогрибковый эффект других водно-спиртовых извлечений видов рода *Salvia* L. не изучался в отношении рода *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Mucor*, вызывающих микозные осложнения при некоторых вирусных заболеваниях, в том числе Covid-19 [110].

### 6.1. Результаты сравнительного изучения противогрибковой активности лабораторных образцов экстракционных препаратов некоторых представителей рода *Salvia* L.

Проведение скрининга противогрибковой активности экстрактов листьев ш. лекарственного, ш. мутовчатого и ш. дубравного, уточнение вклада экстрагента - спирта этилового и сравнение с противогрибковыми препаратами (клотримазол, итраконазол и тербинафин) позволило получить значения МПК исследуемых экспериментальных образцов указанных экстракционных препаратов (табл. 32-36).

Наибольшую противогрибковую активность (клинические штаммы) проявило водно-спиртовое извлечение из листьев ш. лекарственного (на 70% спирте этиловом) в отношении *S. brevicaulis* при шестикратном разведении с МПК 24 мкг/мл, а также – *A. fumigatus* и *A. flavus* при четвертом разведении с МПК равной 95,99 мкг/мл (табл. 32 и 33). Данные результаты с учетом данных по химическому составу позволяют сделать предположение, что эффект в основном зависит от уровня содержания БАС дитерпеновой природы (табл. 32). Кроме того,

выявлена зависимость противогрибковой активности от полярности экстрагента. Так, извлечение на 96% спирте этиловом из листьев ш. лекарственного в отношении всех используемых в качестве тест-систем грибковых штаммов показало меньший эффект относительно извлечения того же вида на 70% спирте этиловом (табл. 32 и 33). Аналогичная ситуация отмечена в отношении штамма *M. circinelloides* для извлечения листьев ш. лекарственного на 70% спирте этиловом - эффект выше по сравнению с используемым 96% спиртом этиловым. Это позволяет сделать вывод о связи противогрибкового действия с уровнем содержания экстрагированных БАС в менее полярных извлечениях (табл. 32).

Таблица 32 – Результаты тестирования извлечений (96% и 70% спирт этиловый) из листьев ш. лекарственного (*S. officinalis* L.) в отношении используемых клинических грибковых штаммов

Объект/ Микроорганизм	Кратность разведения*						
	1	2	3	4	5	6	7
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
<i>A. fumigatus</i>							
Извлечение листьев ш. лекарственного на 96% спирте этиловом	–	–	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. лекарственного на 70% спирте этиловом	–	–	–	–	+	+	+
<i>A. flavus</i>							
Извлечение листьев ш. лекарственного на 96% спирте этиловом	–	–	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. лекарственного на 70% спирте этиловом	–	–	–	–	+	+	+
<i>A. niger</i>							
Извлечение листьев ш. лекарственного на 96% спирте этиловом	–	+	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. лекарственного на 70% спирте этиловом	–	–	–	–	+	+	+
<i>S. brevicallus</i>							
Извлечение листьев ш. лекарственного на 96% спирте этиловом	–	–	–	–	–	+	+
Извлечение листьев ш. лекарственного на 70% спирте этиловом	–	–	–	–	–	–	+
<i>M. circinelloides</i>							
Извлечение листьев ш. лекарственного на 96% спирте этиловом	–	+	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. лекарственного на 70% спирте этиловом	–	+	+	+	+	+	+

Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Согласно результатам проведенных испытаний, антимикотическая активность экстрактов из листьев шалфея дубравного оказалась выражена незначительно. В частности, извлечение на основе 96% спирта этилового проявило слабый эффект в отношении всех исследуемых штаммов, а экстракт на 70% спирте этиловом — лишь в отношении *M. circinelloides*. Данное обстоятельство позволяет сделать вывод о том, что в изученных концентрациях комплекс БАС, присутствующий в извлечениях, не вносит существенного вклада в общую противогрибковую эффективность препаратов (табл. 33).

Противогрибковая активность в отношении *S. brevicallus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus* извлечения из ш. дубравного листьев на 70% спирте также обусловлена наличием суммы дитерпеновых кислот. МПК для *S. brevicallus* – 4,86 мкг/мл, для *A. niger* – 38,85 мкг/мл, *A. flavus* — 19,42 мкг/мл, *A. fumigatus*– 38,85 мкг/мл (табл. 33).

Таблица 33 – Результаты тестирования извлечений листьев ш. дубравного (*S. nemorosa* L.) в отношении используемых клинических грибковых штаммов

Объект/ Микроорганизм	Кратность разведения*						
	1	2	3	4	5	6	7
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
<i>A. fumigatus</i>							
Извлечение листьев ш. дубравного на 96% спирте этиловом	–	–	–	–	+	+	+
Извлечение листьев ш. дубравного на 70% спирте этиловом	–	–	–	+	+	+	+
<i>A. flavus</i>							
Извлечение листьев ш. дубравного на 96% спирте этиловом	–	–	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. дубравного на 70% спирте этиловом	–	–	–	–	+	+	+
<i>A. niger</i>							
Извлечение листьев ш. дубравного на 96% спирте этиловом	–	+	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. дубравного на 70% спирте этиловом	–	–	–	+	+	+	+
<i>S. brevicallus</i>							
Извлечение листьев ш. дубравного на 96% спирте этиловом	–	–	–	–	–	–	+

Извлечение листьев ш. дубравного на 70% спирте этиловом	–	–	–	–	–	–	–	+
<i>M. circinelloides</i>								
Извлечение листьев ш. дубравного на 96% спирте этиловом	–	+	+	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. дубравного на 70% спирте этиловом	–	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

По результатам микробиологических исследований извлечение листьев ш. мутовчатого (на 70% спирте этиловом). Минимальная подавляющая концентрация для каждого возбудителя составляет: *A. fumigatus* – 65,9 мгк/мл, *A. flavus* – 131,8 мгк/мл, *A. niger* – 32,95 мгк/мл, *S. brevicaulis* – 8,24 мгк/мл, *M. circinelloides* – 131,8 мгк/мл (табл. 34).

Таблица 34 – Результаты тестирования извлечений листьев ш. мутовчатого (*S. verticillata* L.) в отношении используемых клинических грибковых штаммов

Объект/ Микроорганизм	Кратность разведения*						
	1	2	3	4	5	6	7
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
<i>A. fumigatus</i>							
Извлечение листьев ш. мутовчатого на 96% спирте этиловом	–	–	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. мутовчатого на 70% спирте этиловом	–	–	–	+	+	+	+
<i>A. flavus</i>							
Извлечение листьев ш. мутовчатого на 96% спирте этиловом	–	–	–	–	+	+	+
Извлечение листьев ш. мутовчатого на 70% спирте этиловом	–	–	–	–	+	+	+
<i>A. niger</i>							
Извлечение листьев ш. мутовчатого на 96% спирте этиловом	–	–	–	–	+	+	+
Извлечение листьев ш. мутовчатого на 70% спирте этиловом	–	–	–	–	+	+	+
<i>S. brevicaulis</i>							
Извлечение листьев ш. мутовчатого на 96% спирте этиловом	–	–	–	–	–	–	+
Извлечение листьев ш. мутовчатого на 70% спирте этиловом	–	–	–	–	–	–	+
<i>M. circinelloides</i>							
Извлечение листьев ш. мутовчатого на 96% спирте этиловом	–	+	+	+	+	+	+

Извлечение листьев ш. мутовчатого на 70% спирте этиловом	–	–	+	+	+	+	+
--	---	---	---	---	---	---	---

Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Для водно-спиртового извлечения листьев ш. мутовчатого (на 96% спирте этиловом) противогрибковый эффект объясняется низким содержанием действующих веществ (табл. 34).

На основании данных научной литературы следует отметить, что растительные антиоксиданты, в частности карнозоловая и розмариновая кислоты, содержащиеся в представителях рода *Salvia L.*, способны снижать окислительный стресс у микроорганизмов, вызванный активными формами кислорода (АФК). Однако, присутствуя в среде в субингибирующих концентрациях, данные соединения могут выступать в роли сигнальных молекул, запуская у микроорганизмов защитные механизмы адаптации к стрессу. Это включает активацию генов устойчивости не только к окислительному стрессу, но и к этиловому спирту, действие которого также сопряжено с генерацией АФК. Таким образом, растительные антиоксиданты, в том числе карнозоловая кислота и розмариновая кислота, могут частично защищать микроорганизмов от стресса, особенно окислительного, но эффективность этого зависит от конкретных условий и механизмов взаимодействия. В малых дозах эти вещества способны действовать как триггеры, повышая толерантность микробов к таким антисептикам, как спирт этиловый, что важно учитывать при изучении механизмов адаптивной резистентности микроорганизмов [132, 135, 143, 163, 165, 171].

По результатам микробиологических исследований для итраконазола и тербинафина МПК составила 250 мгк/мл и 500 мгк/мл соответственно (табл. 35). У 1% раствора клотримазола противогрибковая активность в отношении тестируемых грибковых штаммов не выявлена, что подтверждается литературными данными о резистентности к данным микроорганизмам [26]. При сравнении МПК извлечений трёх исследуемых видов рода *Salvia L.* с МПК противогрибковых препаратов сравнения, показана меньшая МПК изучаемых извлечений (табл. 35).

Таблица 35 – Минимальные подавляющие концентрации препаратов сравнения («отрицательный» контроль) в отношении используемых клинических грибковых штаммов

Объект/ Микроорганизм	Кратность разведения*						
	1	2	3	4	5	6	7
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
<i>A. fumigatus</i>							
0,5% раствор ДМСО итраконазола	–	+	+	+	+	+	+
1% раствор тербинафина	–	+	+	+	+	+	+
1% раствор клотримазола	+	+	+	+	+	+	+
<i>A. flavus</i>							
0,5% раствор ДМСО итраконазола	–	+	+	+	+	+	+
1% раствор тербинафина	–	+	+	+	+	+	+
1% раствор клотримазола	+	+	+	+	+	+	+
<i>A. niger</i>							
0,5% раствор ДМСО итраконазола	–	+	+	+	+	+	+
1% раствор тербинафина	–	+	+	+	+	+	+
1% раствор клотримазола	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. brevicalius</i>							
0,5% раствор ДМСО итраконазола	–	+	+	+	+	+	+
1% раствор тербинафина	–	+	+	+	–	+	+
1% раствор клотримазола	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. circinelloides</i>							
0,5% раствор ДМСО итраконазола	–	+	+	+	+	+	+
1% раствор тербинафина	–	+	+	+	+	+	+
1% раствор клотримазола	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Таким образом, проведено сравнительное исследование противогрибковой активности *in vitro* экспериментальных водно-спиртовых извлечений листьев ш. лекарственного, ш. мутовчатого и ш. дубравного, в результате которого была установлена противогрибковая активность извлечений изучаемых видов на 70% спирте этиловом в отношении грибковых штаммов – *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *S. brevicalius*.

Наибольшей противогрибковой активностью обладает извлечения ш. лекарственного на 70% спирте этиловом в отношении *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *S. brevicalius*. В этой связи для достижения комплексного действия всей нативной гаммы соединений на следующем этапе были проведены исследования

как для извлечений на 40 % спирте этиловом из листьев ш. лекарственного на противогрибковую активность, а также изучена антибактериальная активность всей линейки извлечений из изучаемых видов шалфея.

## 6.2. Результаты сравнительного изучения антибактериальной активности лабораторных образцов экстракционных препаратов некоторых представителей рода *Salvia L.*

Далее сравнивали антибактериальную активность извлечения на 70 % спирте этиловом из листьев из ш. лекарственного, ш. поникающего и ш. дубравного. Результаты эксперимента представлены в таблице 36.

Таблица 36 – Результаты тестирования извлечений на 70% спирте этиловом из листьев некоторых видов рода *Salvia L.* в отношении используемых клинических бактериальных штаммов

Объект/ Микроорганизм	Кратность разведения*									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:356	1:712	1:1424
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>										
Извлечение из листьев ш. лекарственного	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. дубравного	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. поникающего	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Спирт этиловый 70%	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>										
Извлечение из листьев ш. лекарственного	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Извлечение листьев ш. дубравного	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. поникающего	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Спирт этиловый 70%	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>										
Извлечение из листьев ш. лекарственного	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. дубравного	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. поникающего	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Спирт этиловый 70%	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

<i>Bacillus cereus</i>											
Извлечение из листьев ш. лекарственного	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
Извлечение листьев ш. дубравного	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
Извлечение листьев ш. поникающего	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
Спирт этиловый 70%	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Извлечения ш. лекарственного показали наибольшую активность в отношении используемых бактериальных штаммов. Выявили достаточно хорошую антимикробную активность у настойки ш. дубравного в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, что показывает перспективность данного вида как источника антибактериальных веществ.

### 6.3. Результаты изучения противогрибковой активности извлечений из листьев шалфея лекарственного

Для выбора оптимального экстрагента для нового противогрибкового лекарственного препарата на основе листьев ш. лекарственного проводилось сравнительное противогрибковое исследование извлечений листьев шалфея лекарственного на спирте этиловом 40 %, 70 %, 96 % и воде [79, 80, 81].

По результатам водное извлечение не показало противогрибкового действия [79, 80, 81] (табл. 33 и 37)

Таблица 37 – Результаты тестирования водного и водно-спиртового (40% спирт этиловый) извлечений из листьев ш. лекарственного в отношении используемых клинических бактериальных штаммов

Объект/ Микроорганизм	Кратность разведения*						
	1	2	3	4	5	6	7
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
<i>A. fumigatus</i>							
Настой	+	+	+	+	+	+	+
Извлечение на спирте этиловом 40%	–	–	–	–	–	+	+
Спирт этиловый 40%	–	+	+	+	+	+	+
<i>A. flavus</i>							
Настой (1:10)	+	+	+	+	+	+	+

Извлечение на спирте этиловом 40%	–	–	–	–	–	+	+
Спирт этиловый 40%	–	+	+	+	+	+	+
<i>A. niger</i>							
Настой (1:10)	+	+	+	+	+	+	+
Извлечение на спирте этиловом 40%	–	–	–	–	–	+	+
Спирт этиловый 40%	–	+	+	+	+	+	+
<i>S. brevicalius</i>							
Настой (1:10)	+	+	+	+	+	+	+
Извлечение на спирте этиловом 40%	–	–	–	–	–	+	+
Спирт этиловый 40%	–	–	–	+	+	+	+
<i>M. circinelloides</i>							
Настой (1:10)	+	+	+	+	+	+	+
Извлечение на спирте этиловом 40%	–	–	–	–	–	+	+
Спирт этиловый 40%	–	+	+	+	+	+	+
<i>M. mucedo</i>							
Настой (1:10)	+	+	+	+	+	+	+
Извлечение на спирте этиловом 40%	–	–	–	–	–	+	+
Спирт этиловый 40%	–	+	+	+	+	+	+

Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

По результатам микробиологических исследований извлечение из листьев ш. лекарственного на спирте этиловом 40% показало значительно более высокую противогрибковую активность относительно спирта этилового 40%, что свидетельствует о преобладании эффекта за счет прежде всего БАС дитерпеновой природы, а также вклада эфирного масла и других соединений. МИК для всех возбудителей составляет: 6,19 мгк/мл. В сравнении с извлечениями на других концентрациях спирта этилового (70 %, 96 %) извлечение на спирте этиловом 40 % имеет более высокую эффективность. Кроме того, данное извлечение имеет преимущества по сравнению с изученными микотиками в комплексности фармакологических эффектов (противовоспалительный, противобактериальный и другие активности, описанные для ш. лекарственного) за счёт совокупности различных групп БАС, а также предполагаемое отсутствие развития резистентности со стороны патогенных микроорганизмов.

Полученные в ходе исследования результаты послужили основанием выбора оптимального экстрагента (спирт этиловый 40 %) для нового лекарственного препарата на основе листьев ш. лекарственного [79, 80, 81].

#### 6.4. Результаты изучения противогрибковой активности карнозоловой кислоты

В целях подтверждения вклада дитерпеновых соединений в противогрибковое действие экстракционных препаратов шалфея проверяли противогрибковую активность выделенного ранее индивидуального вещества (карнозоловая кислота) в отношении возбудителей микозных заболеваний. Карнозоловую кислоту растворили в спирте этиловом 40%, являющим экстрагентом при получении настойки из шалфея лекарственного листьев.

В качестве возбудителей взяли *Candida albicans*, *Candida auris*, *Candida tropicalis* и *Saccharomyces cerevisiae*. Результаты противогрибкового действия приведены в таблице 38.

Таблица 38 – Результаты тестирования карнозоловой кислоты, выделенной из ш. лекарственного

Объект/ Микроорганизм	Кратность разведения*						
	1	2	3	4	5	6	7
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
<i>Candida albicans</i>							
Раствор карнозоловой кислоты	–	–	–	+	+	+	+
Спирт этиловый 40%	–	–	+	+	+	+	+
<i>Candida auris</i>							
Раствор карнозоловой кислоты	–	–	–	–	+	+	+
Спирт этиловый 40%	–	–	+	+	+	+	+
<i>Candida tropicalis</i>							
Раствор карнозоловой кислоты	–	–	–	+	+	+	+
Спирт этиловый 40%	–	–	+	+	+	+	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>							
Раствор карнозоловой кислоты	–	–	–	+	+	+	+
Спирт этиловый 40%	–	–	+	+	+	+	+
<i>Cryptococcus neoformans</i>							
Раствор карнозоловой кислоты	–	–	–	+	+	+	+
Спирт этиловый 40%	–	–	–	+	+	+	+

Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Спиртовой раствор карнозоловой кислоты в сравнении с растворителем/экстрагентом показал превышающую активность в отношении *Candida albicans*, *Candida auris*, *Candida tropicalis* и *Saccharomyces cerevisiae*. Это

означает, что противогрибковый эффект проявляется за счет содержания карнозоловой кислоты в спиртовом растворе, а не за счёт экстрагента (спирта этилового). Для *Cryptococcus neoformans* активность раствора с растворителем схожа, что показывает отсутствие противогрибкового действия карнозоловой кислоты.

### Выводы к главе 6

1. Выявлено, что наибольшей противогрибковой активностью обладают экстракты из листьев ш. лекарственного на 70% спирте этиловом в отношении *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *S. brevicalius*.
2. Наряду с извлечением из листьев ш. лекарственного на 70% спирте этиловом аналогичной противогрибковой активностью обладают в отношении грибковых штаммов: *S. brevicalius* – извлечения листьев ш. мутовчатого и ш. дубравного на 70% спирте этиловом; *A. niger* – только извлечение листьев ш. дубравного (на 70% спирте этиловом); *A. flavus* – только извлечение листьев ш. мутовчатого на 70% спирте этиловом, что свидетельствует о перспективности этих видов.
3. Извлечение из листьев ш. лекарственного на основе спирта этилового 40% подтвердило высокую противогрибковую активность и свою очередь послужило выбором оптимального экстрагента для перспективной настойки из листьев ш. лекарственного как с антибактериальной, так и противогрибковой активностью.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного комплексного сравнительного фармакогностического изучения пяти видов рода *Salvia* L. (*Salvia* L.), произрастающих в Самарской области, – ш. лекарственный, ш. мутовчатый, ш. поникающий, ш. кустарниковый и ш. дубравный, – были сформулированы следующие **основные выводы**:

1. Морфолого-анатомического исследования стеблей в цельном сырье представителей рода *Salvia* L. выявили, наиболее значимые признаки для диагностики ш. лекарственного, которые раскрывают особенности строения стволовой древесины и распределения уголковой колленхимы, специфическими признаками, свойственные для примесных видов, являются наличие вторичных пучков и степени клеточной склерификации. Сравнительный анализ анатомии поперечных сечений черешков различных видов рода *Salvia* L. показывает, что петиолярная анатомия позволяет диагностировать виды рода *Salvia* L. по размеру поперечного сечения (ширина 1,2 мм, высота 1,5 мм), форме поперечного сечения (округлая форма с ребрами-ушками, выступающими сверху и имеющими характерные каплевидные очертания), особенности проводящей системы (наличие трех закрытых коллатеральных пучков, центрального крупного пучка, разделенного ближе к основанию черешка, и присутствие мелких вторичных пучков). Такие признаки, выявленные впервые, включены в редакцию раздела «Микроскопические признаки» ФС «Шалфея лекарственного листа».
2. Анатомио-морфологическое исследование порошка листьев *Salvia* L. показало высокую значимость простых кроющих трихом и железок как стабильных диагностических признаков. Особое значение играют ксилемные элементы и механические структуры склеренхимы, характерные для примеси стеблей, нормируемой числовым показателем не более 13%. Данные признаки необходимы для включения в раздел анализа «Микроскопические признаки порошка». К тому же доказано, что применение поляризационных методов резко

повышает точность диагностики и снизить время анализа гистологических элементов в порошках.

3. В результате проведенного сравнительного изучения химического состава в стеблях и листьях видов рода *Salvia* L. доказано, что розмариновая кислота, олеаноловая кислота и  $\beta$ -ситостерин являются маркерными компонентами, которые присущи большинству видам рода *Salvia* L., также цинарозид является отличительным маркером для листьев ш. лекарственного в плане подтверждения подлинности ЛРС. Представляется целесообразным включение усовершенствованных ТСХ-методик с использованием СО цинарозида, розмариновой кислоты, олеаноловой кислоты и  $\beta$ -ситостерина в ФС. Установлено, что в стеблях исследуемых видов рода *Salvia* L. также присутствует розмариновая кислота, однако содержание флавоноидных компонентов в них значительно ниже по сравнению с листьями, что может служить диагностическим признаком листьев и использоваться для выявления недопустимого содержания стеблей в ЛРС ш. лекарственного. В результате сравнительных спектрофотометрических исследований установлено, что содержание флавоноидов в листьях представленных видах *Salvia* L. достоверно выше, чем в стеблях. Указанная методика включена в проект ФС для количественного определения флавоноидов в ФС.
4. На основе результатов сравнительного исследования содержания эфирного масла и его компонентов из листьев пяти видов рода *Salvia* L., доказана специфичность компонентного состава эфирного масла *S. officinalis* L. по содержанию 1,8-цинеола. При этом выявлены компоненты эфирного масла, обладающие видовой специфичностью для ш. лекарственного: камфен (4,34%),  $\alpha$ -туйон (5,5%), камфора (13,18%), 1,8-цинеол (20,78%),  $\alpha$ -терпинеол (4,57%).
5. Проведение сравнительного спектрофотометрического анализа дитерпеновых и тритерпеновых кислот в листьях видов рода *Salvia* L., показало, что наибольшее содержание суммы дитерпеновых кислот в пересчёте на карнозоловую кислоту выявлено у листьев ш. кустарникового ( $8,57 \pm 0,03$  %) в листьях ш. лекарственного ( $4,39 \pm 0,05$  %) и ш. дубравного ( $4,26 \pm 0,04$  %), а наибольшее

содержание тритерпеновых соединений в пересчете на олеаноловую кислоту в листьях ш. поникающего ( $12,05 \pm 0,05$  %) и ш. кустарникового ( $19,18 \pm 0,03$  %), а также в стеблях ш. мутовчатого ( $10,06 \pm 0,05$  %).

6. В результате проведенного сравнительного изучения антимикробной активности извлечений из листьев видов рода *Salvia* L., выявлены перспективные виды, обладающие противогрибковой активностью, сопоставимой с ш. лекарственным, – ш. дубравный и ш. мутовчатый, ш. поникающий; из листьев ш. лекарственного предложено получать настойку на 40% спирте этиловом (противогрибковое и антибактериальное средство).
7. Предложена новая редакция разделов «Микроскопические признаки», «Определение основных групп биологически активных веществ», в ФС на ЛРС «Шалфея лекарственного листа». Методики гармонизированы для проекта ФС «Шалфея лекарственного листьев настойка».

**Практические рекомендации.** Разработанные в ходе диссертационных исследований подходы к стандартизации листьев ш. лекарственного, также препарата на их основе – «Шалфея лекарственного листьев настойка» служат для их объективной и качественной оценки. Проекты ФС «Шалфея лекарственного листьев» и ФС «Шалфея лекарственного листьев настойка» рекомендованы нами для включения в ГФ РФ XVI издания. Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, могут быть использованы в центрах сертификации и контроля качества ЛС и на фармацевтических предприятиях по переработке ЛРС ш. лекарственного, а также в учебном процессе по дисциплинам «Фармацевтическая ботаника», «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия».

**Перспективы дальнейшей разработки темы.** Полученные результаты в рамках диссертационной работы имеют научно-практическое значение для реализации задач фармацевтического анализа и последующего внедрения перспективных представителей рода *Salvia* L.: ш. мутовчатый, ш. поникающий и ш. кустарниковый в фармацевтическую практику.

**Список сокращений, использованных в диссертации:**

1. АФК – активные формы кислорода
2. БАВ – биологически активное вещество
3. БАС – биологически активное соединение
4. ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
5. ГФ РФ – государственная фармакопея Российской Федерации
6. ГХ – газовая хроматография
7. ДСК – диазосульфобензольная кислота
8. ЛРС – лекарственное растительное сырьё
9. ЛС – лекарственное средство
10. МИК – минимальная ингибирующая концентрация
11. НД – нормативная документация
12. НФ – неподвижная фаза
13. ОСЧ – особо чистый
14. ОФС – общая фармакопейная статья
15. ПФ – подвижная фаза
16. СО – стандартный образец
17. СТО – стандарт организации
18. ТПХС – таксономический профиль химического состава
19. ТСХ – тонкослойная хроматография
20. ТУ – технические условия
21. УФ – ультрафиолетовый
22. ФВК – фосфорно-вольфрамовая кислота
23. ФМК – фосфорно-молибденовая кислота
24. ФС – фармакопейная статья
25. ХЧ – химически чистый
26. ЧДА – чистый для анализа
27. ЯМР – ядерно-магнитный резонанс

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абакарова, М.А. Нектаропродуктивность представителей рода шалфей в условиях Дагестана / М.А. Абакарова // Пчеловодство. – 2020. – №. 1. – С. 20-21.
2. Авагян, А.А. Лекарственные травы в народной медицине / А.А. Авагян // Сборник научных статей по материалам международной научно-практической конференции, посвященной 180-летию ФГБОУ ВО «Донского государственного аграрного университета» : (к 75-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, почетного работника высшего профессионального образования РФ, доктора с.-х. наук, профессора Агафонова Евгения Васильевича) «Современные аспекты управления плодородием агроландшафтов и обеспечения экологической устойчивости производства сельскохозяйственной продукции». – 2020. – с. 317-329.
3. Аджихметова, С.Л. Тритерпеновые соединения листьев омелы белой (*Viscum album* L.) / С.Л. Аджихметова, Н.М. Червонная, Д.И. Поздняков, Э.Т. Оганесян // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств – 2023. – № 2 (40). – С. 4-11.
4. Айтбеков, Р.Н. Фармакологические свойства *Salvia officinalis* и его компонентов / Р.Н. Айтбеков, М.К. Мурзахметова, Г.Т. Жаманбаева, А.И. Жусупова // Фармация Казахстан. – 2023. – № 1. – С. 390-399 DOI 10.53511/PHARMKAZ.2023.26.73.051
5. Алимходжаева, Н.З. Фармакогностическое изучение 3 видов шалфея, произрастающих в Узбекистане: специальность 15.00.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Алимходжаева Нурия Зайнутдиновна. – Львов, 1974. – 16 с.
6. Артемьева, А.А. Шалфей исцеляющий и омолаживающий / А.А. Артемьева. – СПб: ДИЛЯ, 2001. – 160 с.
7. Асанов Э.Б. Разработка способа получения и стандартизации экстракта шалфея масляного: автореф. дисс. канд. фарм. наук / Э.Б. Асанов. – Москва, 1997. – 21 с.

8. Базарон, Э.Г. Трактат индо-тибетской медицины / Э.Г. Базарон, Т.А. Асеева, Вайдурья ойбо. – Новосибирск, 1984. – 416 с.
9. Беседина, Н. А. Исследования по стандартизации измельченного лекарственного растительного сырья и его водных извлечений: специальность 15.00.02: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Беседина Надежда Александровна: [Место защиты: Московская медицинская академия им. И.М. Сеченов] – Москва, 2007. – 24 с.
10. Беффа, М.Т. Лекарственные растения / М.Т. Беффа – М.: АСТ: Астрель, 2005. – 255 с.
11. Благовещенский, В.В. Определитель растений Среднего Поволжья. / В.В. Благовещенский, Ю.А. Пчелкин, Н.С. Раков, В.В. Старикова, В.С. Шустов. – Л.: наука, 1984. – 392 с.
12. Ботоева, Е.А. Особенности фитотерапии при заболеваниях органов малого таза в амбулаторно-поликлинической практики [Текст] : монография / Е. А. Ботоева, А. О. Занданов ; научный редактор И. П. Убеева, доктор медицинских наук, профессор ; Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, Бурятский государственный университет. – Улан-Удэ : Изд-во Бурятского гос-унта, 2018. – 113 с.
13. Бровкина, И.В. Варианты наименований растений: этимологический аспект / И.В. Бровкина, Е.С. Ильинская // Наука и инновации в современных условиях: сборник статей международной научно-практической конференции: в 4 частях, Казань, 20 января 2017 года. Том Часть 2. – Казань: Общество с ограниченной ответственностью "Аэтерна", 2017. – С. 90-92.
14. Бубенчикова, В.Н. Изучение фенольных соединений шалфея мутовчатого (*Salvia verticillata* L.) / В.Н. Бубенчикова, Ю.А. Кондратова // Башкирский химический журнал. – 2008. – Т. 15, №2. – С. 102-104.
15. Бурова, С.А. Мукормикоз – опасная и реальная грибковая суперинфекция в период пандемии COVID-19 / С. А. Бурова, А. В. Таганов, А. А. Каштанова, Ю. В. Горбачева // Успехи медицинской микологии. – 2022. – Т. 23. – С. 51-54.

16. Вавилова Н.М. Гомеопатическая фармакодинамика / Н.М. Вавилова. – М.: Эверест, 1994. – 507 с.
17. Власенко Е. Зеленый и салаты. Секреты чудо-урожае. / Е. Власенко – ЛитРес, 2014. – 140 с.
18. Гагиева, Л.Ч. Сезонная динамика содержания биологически активных веществ в надземной части *Salvia verticillata* и *S. Sclarea* / Л.Ч. Гагиева, Б.Г. Цугкиев // Растительные ресурсы. – 2018. – Т. 54, № 3. – С. 427-438.
19. Гаммерман А.Ф. Дикорастущие лекарственные растения СССР / А.Ф. Гаммерман, И.И. Гром. – М.: Медицина, 1976. – с. 214.
20. Георгиева-Андреева, М. Исследование антигрибного действия эфирных масел чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*), шалфея (*Salvia officinalis*) и эвкалипта (*Eucalyptus globulus*) на гриб *Alternaria* ssp., изолированного из стевии (*Stevia rebaudiana*) / М. Георгиева-Андреева, С. Енчев // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2013. – № 3. – С. 132-137.
21. Государственная фармакопея Республики Беларусь [Электронный ресурс] – Режим доступа: [https://farmacognozie.usmf.md/wpcontent/blogs.dir/138/files/sites/138/2015/09/2007.-VyelorussianPharmacopoeia\\_Volume-2.pdf](https://farmacognozie.usmf.md/wpcontent/blogs.dir/138/files/sites/138/2015/09/2007.-VyelorussianPharmacopoeia_Volume-2.pdf)
22. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XIV изд. – Т. I-IV. М., 2018. [Электронный ресурс] URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 05.01.2026).
23. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XV изд. – Т. I-II [Электронный ресурс] URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea15>
24. Государственная фармакопея СССР. X издание / МЗ СССР. –Реактивы. – М.: Медицина, 1968. – 876-877 с.
25. Государственная фармакопея СССР. XI издание / МЗ СССР. – Вып.1: Общие методы анализа. – М.: Медицина, 1987. – 336с.; Вып.2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.
26. Государственный реестр лекарственных средств. [Интернет ресурс] URL <https://grls.minzdrav.gov.ru/Default.aspx> (Дата обращения 10.01.2026)

27. Губанова Е.А. Фенольные соединения некоторых видов рода *Salvia* (Lamiaceae) флоры России и их биологическая активность / Е.А. Губанова, О.И. Попова // Растительные ресурсы. – 2009. – Т. 45, № 3. – С. 137-162.

28. Гудкова, А.А. Изучение подлинности растительного сырья методом петиолярной анатомии на примере некоторых видов рода Горец *Persicária* Mill./ А.А. Гудкова, В.А. Агафонов, В.В. Негробов, О.Н. Щепилова, А.С. Чистякова, А.А. Сорокина, А.И. Сливкин // Биофармацевтический журнал. — 2020. — Т. 12, № 6. — С. 75–80.

29. Гусева, С. И. Оценка эффективности, безопасности и разработка параметров стандартизации нового лекарственного препарата на основе шалфея и эхинацеи: специальность 14.03.06 "Фармакология, клиническая фармакология": автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Гусева Светлана Игоревна: [Место защиты: Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины Российской академии медицинских наук] – Санкт-Петербург, 2010. – 160 с.

30. Гусейханова, Т.А. Получение сальвина из листьев шалфея лекарственного / Ф. М. Гусейханова, Т. А. Ибрагимов, Ф. О. Исмаилова, Л.В. Омариева, Ш.М. Шихрагимова // Фундаментальные и прикладные проблемы получения новых материалов: исследования, инновации и технологии : Материалы научных трудов XII Международной научно-практической конференции. Конференция, посвященная памяти Алыкова Наримана Мирзаевича, Астрахань, 24–27 апреля 2018 года / под общей редакцией Джигола Л.А. – Астрахань: Индивидуальный предприниматель Сорокин Роман Васильевич (Издатель: Сорокин Роман Васильевич), 2018. – С. 29-33.

31. Дейл, З. Жидкостная колоночная хроматография (пер. с англ.) / З. Дейла, К. Мацека, Я. Янака // Под ред. докт. Хим. Наук, профессора В.Г. Березкина. – М.: Мир. – 1978. – 544 с.

32. Доброчаева, Д.Н. Определитель высших растений Украины / Д.Н. Доброчаева, М.И. Котов, Ю.Н. Прокудин, А.И. Барбарич, В.И. Чопик, В.В. Протопопова, С. С. Морозюк, О.Н. Дубовик, С.Н. Зиман, Ю.Р. Шеляг-Сосонко,

Т.Я. Мякушко, Б.В. Заверуха, З. Ф. Катина, Н.П. СКрипник, Л.И. Крицкая, А.Л. Лыпа, О.П. Мринский, Ю. Е. Алексеев, А.К. Скворцов, Л.Г. Оляницкая, А.Н. Краснова, В. В. Тверетинова, Л.П. Слюсаренко, Г. Т. Шимкус, Я.П. Дидух, Н. Г. Глаголева, Л. М. Сипайлова, А. Ф. Ильинская, А. В. Чернявский, Н. С. Федорончук, И. С. Ивченко, Т. Г. Бойко, Т. Л. Добычина, С.К. Мельник, В.И. Стефаник, А.В. Веренко, Э.Й. Орнст. – Киев: Наук. Думка, 1987. – С. 548.

33. Егоров, Н. П. Тритерпены надземной части представителей рода *Salvia* / Н. П. Егоров // Студенческая наука и медицина XXI века традиции, инновации и приоритеты : Сборник материалов XV Всероссийской (89-ой Итоговой) студенческой научной конференции СНО с международным участием, Самара, 15 апреля 2021 года / Под редакцией А.В. Колсанова, Г.П. Котельникова. – Самара: Общество с ограниченной ответственностью "СамЛюксПринт", 2021. – С. 206-207.

34. Егоров, Н.П. Сравнительное исследование количественного содержания дитерпеновых соединений в листьях некоторых видов рода Шалфей (*Salvia* L.) / Н. П. Егоров, В. М. Рыжов, В. А. Куркин, К.А. Захарова, Т.Г. Радомская, А.С. Жилкин // Аспирантский вестник Поволжья. – 2025. – Т. 25, № 3. – С. 45-51. – DOI 10.35693/AVP679224.

35. Егоров, Н.П. Фенольные соединения представителей рода Шалфей (*Salvia* L.) / Н.П. Егоров, В.М. Рыжов, В.А. Куркин, К.Н. Сазанова, Т.Г. Радомская, Э.М. Ахмадуллина // Фармация. – 2026. – Т. 75, № 1. – С. 12-18. DOI: 10.29296/25419218-2026-01-02

36. Егорова, Т.В. Словарь иностранных слов современного русского языка. / Т.В. Егорова. – М.: «Аделант», 2014. – 800 с.

37. Жалилов, Н.А., Лечебные свойства растения эвкалипт /Н.А. Жалилов, И.Д. Кароматов //Биология и интегративная медицина. – 2017. – №. 11. – С. 81-92.

38. Захарова, Е.А. Сравнительная анатомия черешков представителей *Carum* s.l. (*Ariaceae*) / Е. А. Захарова // Ботанический журнал. — 2015. — Т. 100, № 7. — С. 676–687.

39. Зилфикаров, И. Н. Новые подходы в разработке и стандартизации фитопрепаратов из эфирномасличного сырья: специальность 15.00.02: диссертация

на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук / Зилфикаров Ифрат Назимович: [Место защиты: ГОУВПО "Пятигорская государственная фармацевтическая академия"] – Пятигорск, 2008. – 271 с.

40. Зилфикаров, И.Н. Дитерпены и полифенолы шалфея лекарственного: перспективы медицинского применения (обзор литературы) // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2007. – № 3. – С. 149-157.

41. Зилфикаров, И.Н. Определение дитерпеновых кислот в сырье и препаратах шалфея лекарственного / И.Н. Зилфикаров, А.В. Жилин // Фармация. – 2007. – № 2. – С. 7-9.

42. Зилфикаров, И.Н. Оценка эффективности экстракта шалфея лекарственного при консервативном лечении гингивита / И.Н. Зилфикаров, М.Н. Меджидов, С.Р. Магомедова, Б.А. Алисултанов // Всерос. научно-практическая конф. «Химия в технологии и медицине»: Материалы... Махачкала, 2002. - С. 102 - 104.

43. Карасавиди, А. О. Оценка качества лекарственного растительного сырья, эфирных масел и фитопрепаратов лаванды лекарственной, розмарина лекарственного, шалфея лекарственного: специальность 15.00.02: диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Карасавиди Антон Олегович: [Место защиты: ГОУВПО "Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия"] – Санкт-Петербург, 2006. – 275 с.

44. Кароматов, И.Д. Шалфей в древневосточной и народной медицине / И.Д. Кароматов, С.Х. Рахимова // Биология и интегративная медицина. – 2018. – №5(22). – С. 146-152.

45. Кашфуллина, К.И. Исследование метаболомного профиля *Salvia stepposa* Des.-Shost. Методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией / К.И. Кашфуллина, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, Т.В. Булгаков // Известия ГГТУ. Медицина, фармация. – 2024. – № 3. – С. 71-76. – DOI 10.51620/2687-1521-2024-3-19-71-76.

46. Кашфуллина, К.И. Разработка и валидация методики выделения и количественного определения флавоноидов в листьях *Salvia stepposa* Des.- Shost. /

К.И. Кашфуллина, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, Т.В. Булгаков // Химия растительного сырья. – 2025. – № 3. – С. 167-175. DOI: 10.14258/jscrpm.20 250316389

47. Киселев, К.В. Флора средней полосы России: Атлас-определитель / Киселева К. В., Майоров С.Р., Новиков В.С., Под ред. Проф. В.С. Новикова. – М.: ЗАО «Фитон+», 2010. – 544 с.: ил. ISBN: 978-5-93457-307-3 (61)

48. Климов, А.В. Использование морфо-анатомических признаков для выявления гибридных растений в зоне естественной гибридизации *Populus laurifolia* и *P. nigra* в Сибири, Россия / А.В. Климов, Б.В. Прошкин // Вестник Томского государственного университета. Биология. — 2019. — № 46. — С. 64–81.

49. Колсанов, А.В. Клинико-анатомическая характеристика пациентов с риноорбитоцеребральной формой мукормикоза / А.В. Колсанов, П.М. Зельтер, О.В. Зелева, О.В. Иванова, А.В. Лямин, Е.А.Сидоров, Т.Ю. Владимирова, А.В. Козлов, Ю.С. Пышкина // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2022. – Т. 77, № 6. – С. 381-390. – DOI 10.15690/vramn2193.

50. Корсун, В.Ф. Фитотерапия: Традиция российского травничества / В.Ф. Корсун, Е.В. Корсун. – М.: Эксмо, 2010. – 880 с.

51. Корсунов, В.Ф. Атлас эффективных лекарственных растений / В.Ф. Корсун. – М.: ЭКСМО, 2010. – 384 с.

52. Корчунов, Н.С. Сравнительный анализ количественного содержания дубильных веществ в траве *Salvia officinalis* и *Salvia sclarea* / Н.С. Корчунов, Ю.В. Шур, Н.А. Сальникова // Молодежь, наука, медицина : материалы 65-й Всероссийской межвузовской студенческой научной конференции с международным участием, Тверь, 17–18 апреля 2019 года. – Тверь: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Тверская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2019. – С. 523-526.

53. Кубасова, Е.Д. Противоопухолевые и противовоспалительные свойства дубильных веществ растительного происхождения и перспективы их использования в фармации / Е.Д. Кубасова, И.А. Крылов, Г.В. Корельская, К.А.

Пантюхова, Р.В. Кубасов // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2022. – Т. 24, №12. – С. 55-60. DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-12-55-60

54. Куркин, В.А. Сравнительный качественный и количественный анализ фенольных соединений в сырье шалфея лекарственного и шалфея сухостепного / В.А. Куркин, В.М. Рыжов, А.Н. Саньков, А.А. Шмыгарева, М.А. Никандрова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2018. – № 3. – С. 28-32.

55. Куркин, В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов) / В.А. Куркин. – 7-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Полиграфическое объединение «Стандарт»: ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2025. – 1268 с. : ил. ISBN 978-5-6052506-7-8.

56. Куркина, А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография / А.В. Куркина. – Самара: ООО «Офорт», ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 290 с

57. Курочкин, Е.И. Лекарственные растения Среднего Поволжья. / Е.И. Курочкин. – 2-е изд., испр. и доп. – Куйбышев: Кн. Изд-во, 1989. – 304 с

58. Кьосев, Н.А. Полный справочник лекарственных растений / Н.А. Кьосев – М.: Эксмо, 2006. – 992 с.

59. Лапина, А.С. Тарасенко Л. В. Вопросы петиолярной анатомии представителей рода *Monarda* / А.С. Лапина, В.А. Куркин, В.М. Рыжов // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. — 2019. — № 4. — С. 204–208.

60. Левая Я.К. Розмариновая кислота из *Salvia stepposa* и ее антирадикальная активность / Я.К. Левая, Г.А. Атажанова, С.А. Ивасенко, А.О. Савпиева, М.К. Смагулов / Вестник Карагандинского университета. Серия: Биология. Медицина. География. – 2023. – Т. 112, № 4. – С. 150–155. DOI 10.31489/2023VMG4/150-155

61. Лужанин, В. Г. Качество лекарственных растительных препаратов: новые аспекты и решения / В. Г. Лужанин, В. А. Куркин, И. В. Гравель // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные

исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2023. – Т. 13, № 2. – С. 128-133. – DOI 10.30895/1991-2919-2023-13-2-128-133.

62. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части СССР. 9-е издание / П.Ф. Маевский. – Ленинград Издательство «Колос», 1964.

63. Маевский, П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. / П.Ф. Маевский. – 11-е изд. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 200 с.

64. Маевский, П.Ф. Флора средней полосы Европейской части СССР – 9-е исправленное и дополненное издание / П.Ф. Маевский. – Ленинград: «Колос», 1964. – 880 с.

65. Макарова, А. С. Совершенствование методов стандартизации и разработка антимикробных препаратов эвкалипта прутовидного, шалфея лекарственного и зверобоя продырявленного : специальность 14.04.02 "Фармацевтическая химия, фармакогнозия" : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Макарова Алена Сергеевна, 2015. – 158 с.

66. Мамедова, И.О. Состав эфирных масел листьев *Myrtus communis* L. на востоке Азербайджана / И.О. Мамедова, Т.С.О. Мамедов // Hortus botanicus. – 2022. – Т. 17. – С. 204-216.

67. Минаева, А.Ю. Изучение морфологических и анатомических признаков лапчатки серебристой (*Potentilla argentea* L.) / А.Ю. Минаева, К.Т. Дусупова, И.В. Землянская, А.В. Яницкая // Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона. — 2025. — № 2. — С. 55–62.

68. Миронов, А.Н. Современные подходы к вопросу стандартизации лекарственного растительного сырья / А. Н. Миронов, И. В. Сакаева, Е. И. Саканян, Л.В. Корсунов, О.А. Мочкикина // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2013. – № 2. – С. 52-56

69. Муравьев, И.А. Технология лекарств: в 2 т. / Д.А. Муравьева. – М.: Медицина, 1980. – Т.1. – С. 174.

70. Немерешина, О.Н. Шалфей сухосухостепной как перспективное лекарственное растение степной зоны России / О.Н. Немерешина, Н.Ф. Гусев // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2019. – № 6(80). – С. 118-121.

71. Нестерова, О.В. Анализ содержания тритерпеновых сапонинов в траве любистока лекарственного / О.В. Нестерова, К.И. Ваулина // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств – 2022. – № 3 (37). – С. 33-40. DOI:10.34907/JPQAI.2022.77.17.005

72. Нечаева, Е.А. Изучение фенольных соединений шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.) в культуре in vitro / Е.А. Нечаева, М.Н. Повыдыш, Н.В. Кириллова, О.М. Спасенкова, А.С. Ильченко // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине : сборник научных трудов 3-Й Международной конференции, посвященной 110-летию доктора биологических наук, профессора А. П. Бресткина, Санкт-Петербург, 01–02 декабря 2022 года. Том Часть 1. – Санкт-Петербург: Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, 2022. – С. 141-146.

73. О'Коннелл, Д. Энциклопедия специй. От аниса до шалфея. / Д. О'Коннелл. – ЛитРес, Эксмо, 2017. – 352 с.

74. ООО "КоролёвФарм" [Интернет ресурс] URL: <https://www.korolevpharm.ru/?ysclid=ml9cnjizb8347316810> (дата обращения: 16.01.2026)

75. ООО «САНТА СНГ» 2018 [Интернет ресурс] URL: <https://carmolis.ru/def/fito/shalfei.html> (дата обращения: 12.01.2026)

76. Парфененкова, О.В. К вопросу о происхождении латинских названий некоторых лекарственных растений. / О.В. Парфененкова // Актуальные проблемы современной медицины и фармации. – 2023. БГМУ, Минск (19.04 – 20.04). – С. 1398.

77. Патент № 2734589 С1 Российская Федерация, МПК А01G 20/00, А01G 20/30, А01G 31/00. Способ озеленения крыш : № 2019131615 : заявл. 08.10.2019:

опубл. 20.10.2020 / И.В. Мочалов, И.А. Миненко, А.А. Бенуж; заявители: И.В. Мочалов, И.А. Миненко.

78. Патент № 2755998 С2 Российская Федерация МПК А23К 10/30, А23К 50/00, А23К 20/10, А23К 20/158. Кормовые композиции, подходящие для мясопродуктивных животных, их применение и мясо, получаемое с использованием указанной кормовой композиции: 10.02.2017: опубл. 10.03.2021 /Э. Домазакис, К. Домазакис; заявитель «КРЕТА ФАРМ ФУДС СИНГЛ МЕМБЕР ИНДАСТРИАЛ ЭНД КОММЕРШИАЛ СОСИЕТЕ АНОНИМ трейдинг эс КРЕТА ФАРМ ФУДС С. А. (GR)» – 10 с.

79. Патент № 2835171 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/537. Применение настойки шалфея в качестве противогрибкового средства в отношении *Miscor tucedo* : заявл. 18.04.2024 : опубл. 24.02.2025 / В. А. Куркин, Н. П. Егоров, В. М. Рыжов А.В. Лямин, А.В. Козлов; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 8 с.

80. Патент № 2835714 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/537, А61Р 31/10. Применение настойки шалфея в качестве противогрибкового средства в отношении *Scopulariopsis brevicaulis* : заявл. 17.04.2024 : опубл. 03.03.2025 / В. А. Куркин, Н. П. Егоров, В. М. Рыжов А.В. Лямин, А.В. Козлов; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

81. Патент № 2837771 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/537. Применение настойки шалфея в качестве противогрибкового средства в отношении штаммов рода *Aspergillus*: заявл. 19.04.2024 : опубл. 04.04.2025 / В.А. Куркин, Н.П. Егоров, В.М. Рыжов, А.В. Лямин, А.В. Козлов, Э.М. Ахмадуллина, К.А. Захарова, А.В. Кривошеева, Д.П. Шлычков, В.Б. Браславский, К.Н. Сазанова, Д.А. Хорошилова, М.А. Постников, О.Е. Симановская, Е.К. Александрова; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего

образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 9 с.

82. Патент № 2839719 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/537, А61К 31/197, А61К 31/198, В01D 11/02. Способ получения карнозоловой кислоты из листьев шалфея лекарственного: заявл. 03.12.2024: опубл. 12.05.2025 / Р.Ш. Хазиев, С.Д. Рюмин, А.И. Мешкорудников, А.С. Халиуллина; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 13 с.

83. Патент РФ № 2134584 С1 Российская Федерация МПК А61К 36/28, А61К 9/08, А61К 31/192. Способ получения иммуномодулирующего препарата "Настойка эхинацеи пурпурной" : 02.07.1997 : опубл. 20.08.1999 / В.А. Куркин, В.В. Косарев, О.И. Авдеева, Е.В. Авдеева, П.Г. Мизина, А.В. Жестков; заявитель Куркин В.А. – 11 с.

84. Пильникова, С. Д. Характеристика использования трав и специй в функциональных молочных продуктах / С. Д. Пильникова // Развитие науки в современном мире : материалы Международной (заочной) научно-практической конференции, Душанбе, 06 июня 2023 года. – Нефтекамск: Научно-издательский центр "Мир науки" (ИП Вострецов Александр Ильич), 2023. – С. 13-18.

85. Позднякова, Т.А. Изучение тритерпеновых соединений астрагала белостебельного (*Astragalus albicaulis* Dc) / Позднякова Т.А., Бубенчиков Р.А. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии – 2016. – Т.19, № 12. – С. 24-27.

86. Полухина Т.С. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в сырье шалфея степного / Т.С. Полухина //Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2020. – Т. 22. – №. 9. – С. 52-57. DOI:10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-9-52-57

87. Полухина, Т.С. Сравнительное изучение динамики накопления суммы дубильных веществ в сырье *Salvia officinalis* L. и *Salvia stepposa* L. / Т.С. Полухина

// Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2020. – Т. 22, № 8. – С. 38-42. DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-8-38-42.

88. Полянин, Д. А. Вирусные пневмонии: грипп, COVID-19, аденовирус, риновирус / Д. А. Полянин, А. В. Женихов, Э. Ю. Мамедов // Молодой ученый. – 2023. – № 37 (484). – С. 45-46.

89. Прошкин, Б.В. Применение петиолярной анатомии для идентификации *Populus nigra*, *P. laurifolia* и *P. x jrtyschensis* в зоне естественной гибридизации / Б.В. Прошкин, А.В. Климов // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. — 2018. — № 17. — С. 247–250

90. Пугачева, О.В. Петиолярная анатомия листьев аронии Михурина / О. В. Пугачева, О.В. Тринеева, В.В. Негробов, Н.В. Хромов // Биофармацевтический журнал. — 2024. — Т. 16, № 2. — С. 11–15.

91. Путырский, И.Н. Универсальная энциклопедия лекарственных растений. / И.Н. Путырский, В.Н. Прохоров. – Мн.: Книжный Дом; М.: Махаон, 2000. – 656 с.

92. Раздорская, О. В. Этимологический анализ фармацевтической лексики в английском и русском языках / О.В. Раздорская // Ученые записки ОГУ. Серия: Гуманитарные и социальные науки. – 2018. – Т. 4, № 81. – С. 184-187.

93. Российские рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2025-01. Год утверждения (частота пересмотра): 2025 (пересмотр ежегодно). – МАКМАХ, СГМУ: Смоленск, 2025. – 208 с

94. Руководство по инструментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов / Под ред. С.Н. Быковского [и др.]. – М.: Изд-во Перо, 2014. - 656 с.

95. Рябина, Е.И. Сравнительное исследование Melissa лекарственной и шалфея лекарственного на содержание полифенолов / Е.И. Рябина, Е.Е. Зотова, Н.И. Пономарева, С.В. Рябинин // Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. – 2009. – № 2. – С. 49-53.

96. Сабанчиев, Х. М. А. Фруктово-овощные продукты в системе питания балкарцев в XIX - начале XX вв / Х. М. А. Сабанчиев, Л. Х. Алтуева // Научные открытия 2018 : Материалы XXXVIII Международной научно-практической конференции, Москва, 28–25 мая 2018 года. – Москва: Научный центр "Олимп", 2018. – С. 94-95.

97. Семенченко, В.Ф. Исследование реакции пентациклических тритерпеноидов с концентрированной серной кислотой / В.Ф. Семенченко, Э.Т. Оганесян, В.Д. Пономарев, В.И. Фролова // Химия природных соединений. – 1971. – № 3. – С. 294-296.

98. Сенатор, С.А. Сосудистые растения Тольятти и окрестностей (Самарская область) / С.А. Сенатор, С.В. Саксонов, Н.С. Раков, В.М. Васюков, А.В. Иванова, Л.В. Сидякина // Фиторазнообразие Восточной Европы. – 2015. – Т. 9. – №. 1. – С. 32-101.

99. Симонян, А.В. Количественное определение тритерпеноидов в растениях рода *Thymus* / А.В. Симонян, А.Л. Шинкаренко, Э.Т. Оганесян // Химия природных соединений. – 1972. – № 3. – С. 293-295.

100. Смит, А. Прикладная ИК-спектроскопия: Пер. с англ. – М. : Мир, 1982. – 328 с.

101. Урбачик, Е.А. Определение противогрибковой активности почек тополя и прополиса в отношении штаммов постковидных инфекций COVID-19 / Е.А. Урбачик, В.А. Куркин, В.М. Рыжов, А.В. Лямин, А.В. Козлов, А.С. Цибина // Химия растительного сырья. – 2024. – № 4. – С. 125-137. – DOI 10.14258/jscrgm.20240414056.

102. Фасмер, М. Этимологический словарь русского языка. В 4 т. Т. 4 (Т-ящур) / Пер. с нем. И доп. О.Н. Трубачева. – 2-е изд., стер. – М.: Прогресс, 1987. – 864 с.

103. Филиппова, О.Б. Технологические приемы повышения продуктивности молочных коров с использованием фитодобавок / О.Б. Филиппова, Е.Ф. Саранчина // Наука в центральной России. – 2019. – № 2 (38). – С. 98-103.

104. Флора СССР: в 30-ти томах / под ред. В.Л. Комарова. – Л.: Издательство Академии Наук СССР, 1954. – Т. 21 – С. 244-363.

105. Хазиев, Р.Ш. Получение извлечений из листьев шалфея лекарственного, оптимизированных по содержанию дитерпеновых кислот и изучение их антимикробной активности / Р.Ш. Хазиев, А.С. Макарова, Л.Т. Мусина // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. – № 2. – С. 35-37.

106. Хайдукова Е.В. Сравнительное фармакогностическое исследование сухих экстрактов из надземной части *Salvia tesquicola* Клок. Et. Pobed. и из листьев *S. officinalis* L. / Е.В. Хайдукова, Е.Е. Лесиовская, Л.С. Теслов // Растительные ресурсы – 2003 – Т. 39, № 3. – С. 122-133.

107. Халиуллина, А.С. *Eucalyptus viminalis*: химический состав, биологическая активность, стандартизация / А.С. Халиуллина, Д.Х. Шакирова, Л.А. Хайруллина, О.В. Моргацкая, В.Н. Угольцова, А.В. Айдова, Р.Ш. Хазиев, А.А. Саламатин, В.А. Куркин // Химия растительного сырья. – 2024. – № 1. – С. 5-30. – DOI 10.14258/jcprgm.20240112698.

108. Чакчир, О. Б. Исследование влияния ионизирующего излучения на биологически активные комплексы лекарственных растений: специальность 14.04.02 "Фармацевтическая химия, фармакогнозия": автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Чакчир Олег Борисович: [Место защиты: Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений Российской академии сельскохозяйственных наук] – Москва, 2013. – 23 с.

109. Черных, П.Я. Историко-этимологический словарь современного русского языка. В 2 т. / П.Я. Черных. – М.: Русский язык, 2002. Т. I 622 с. Т. II. 560 с.

110. Честнова, Т.В. Ассоциация SARS-COV-2 с бактериальными, вирусными и грибковыми патогенами как возможная причина тяжелых форм COVID19 (Обзор литературы) / Т.В. Честнова, А.С. Подшибякина // Вестник новых медицинских технологий. – 2021. – Т. 28, №. 3. – С. 58-63.

111. Шешегова, Е.В. Фармакогностическое и фармакологическое изучение надземной части шалфея сухостепного *Salvia tesquicola* Клок. Et Pobed: Автореф. Дис. фарм. наук / Е.В. Шешегова – СПб, 2004. – 26 с.

112. Ширяева, Н.А. Применение медоносных культур в декоративном растениеводстве / Н.А. Ширяева, В.П. Наумкин // Вестник аграрной науки. – 2020. – №. 1 (82). – С. 60-67.

113. Щеглова, Т.А. Изучение биологически активных веществ липофильной фракции (углеводородного экстракта) листьев шалфея и ее фармакологической активности: Дис. канд. Фарм. наук / Щеглова Татьяна Алексеевна. – М., 2014. – 187 с.

114. Щеглова, Т.А. изучение химического состава и антиоксидантной активности матричной настойки из листьев шалфея лекарственного / Т.А. Щеглова, Д.В. Курилов, А.В. Стреляева // Фармация. – 2012. – №3. – С. 27-30.

115. ЭВК: 2021 [Интернет ресурс] URL: <https://evklab.ru/> (дата обращения: 16.01.2026)

116. Эрицьяи, Е.Н. Биологически активные вещества шалфея лекарственного в косметике / Е. Н. Эрицьяи, В. Е. Тарасов // Тезисы докладов XXXI научной конференции студентов и молодых ученых вузов Южного федерального округа, посвященной 35-летию Кубанского государственного университета физической культуры, спорта и туризма, Краснодар, 01 декабря 2003 года – 01 2004 года / Под ред. В.А. Якобашвили и А.И. Погребного. Том Часть 1. – Краснодар: Кубанский государственный университет физической культуры, спорта и туризма, 2004. – С. 233-234.

117. Яковлев, Г.П. Большой энциклопедический словарь лекарственных растений: учебное пособие / под ред. Г.П. Яковлева. – 3-изд., испр. и доп. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2015. – 759 с.

118. Abomuti, M.A. Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using *Salvia officinalis* L. Leaf Extract and Their Photocatalytic and Antifungal Activities / M.A. Abomuti, E.Y. Danish, A. Firoz, N. Hasan, A. Firoz, M.A. Malik // Biology. – 2021. – Vol.10, No. 11. – P. 1075. DOI: 10.3390/biology10111075

119. Amirante, P. Macchine ed impianti per la coltivazione della *Salvia* / P. Amirante. – 20 p.

120. Arockianathan, P.M. Recent Status and Advancements in the Development of Antifungal Agents: Highlights on Plant and Marine Based Antifungals / P.M. Arockianathan, M. Mishra, R. Niranjana // Current topics in medicinal chemistry. – 2019. – Vol. 19, No. 10. – P. 812-830. DOI:10.2174/1568026619666190412102037

121. Birtić, S. Carnosic acid / S. Birtić, P. Dussort, F.X. Pierre, A.C. Bily, M. Roller // Phytochemistry. – 2015. – Vol. 115. – P. 9-19. DOI:10.1016/j.phytochem.2014.12.026

122. Bisio, A. Quinone diterpenes from *Salvia* species: chemistry, botany, and biological activity / A. Bisio, F. Pedrelli, M. D'Ambola, F. Labanca, A.M. Schito, R. Govaerts, N. D. Tommasi, L. Milella // Phytochemistry reviews. – 2019. – Vol. 18, N. 3. – P. 665-842. DOI:10.1007/s11101-019-09633-z

123. British Homoeopathic Pharmacopeia. – London: Stars, 1993.- Vol.1.-150 p.

124. British Pharmacopoeia. 2026. <https://www.pharmacopoeia.com/> (дата обращения: 10.01.2026)

125. Catalogue of Life: the most authoritative global species database [Электронный ресурс] / Catalogue of Life Foundation. – Ver. 2025-12-20. – Amsterdam, NL, 2025. – 1 online resource. – DOI: 10.48580/dgvtg. – Available at: <https://www.catalogueoflife.org>. (дата обращения: 15.01.2026).

126. Chen, S.H. Successful treatment of COVID-associated fungal infection due to *Scopulariopsis* and *Aspergillus* in a girl with acute lymphoblastic leukemia / S.H. Chen, T.Y. Chang, C.Y. Kuo, C.C. Chang, T.H. Jaing, C.J. Chen, Y.C. Huang, C.H. Chiu // Pediatr Blood Cancer. – 2023. – Vol. 70, No. 5. – P. e30218. DOI:10.1002/pbc.30218

127. Dadfar, F. The effect of *Salvia officinalis* extract on the menopausal symptoms in postmenopausal women: An RCT / F. Dadfar, K. Bamdad // International Journal of Reproductive BioMedicine. – 2018. – Vol. 17, No. 4. – P. 287-292. DOI:10.18502/ijrm.v17i4.4555

128. Delamare, A.P.L. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil / A.P.L. Delamare, I.T.

Moschen-Pistorello, L. Artico, L. Atti-Serafini, S. Echeverrigaray // Food Chem. – 2007. – Vol. 100, No. 3. – P. 603- 608. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.09.078.

129. Dobrynin, V.N. Antimicrobial substances from *Salvia officinalis* *Salvia Officinalis* / V.N. Dobrynin, M.N. Kolosov, B.K. Chernov, N.A. Derbentseva. // Chemistry of Natural Compounds. – 1976. – Vol. 12, N. 5. – P. 685-687. DOI:10.1007/BF00565233

130. Dogan, G. Composition of the essential oil of two *Salvia taxa* (*Salvia sclarea* and *Salvia verticillata* subsp. *verticillata*) from Turkey / G. Dogan, S. Hayta, E. Yuce, E. Bagci // Natural Science and Discovery. – 2015. – No. 1 (3). – P. 62-67. DOI: 10.20863/nsd.23928

131. European Pharmacopoeia. 6th Ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 2008. <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph.-eur.-11th-edition> (дата обращения 12.01.2026)

132. Fernando, P.M. Rosmarinic Acid Attenuates Cell Damage against UVB Radiation-Induced Oxidative Stress via Enhancing Antioxidant Effects in Human HaCaT Cells / P.M. Fernando, M.J. Piao, K.A. Kang, Y.S. Ryu, S.R. Hewage, S.W. Chae, J.W. Hyun // Biomolecules and Therapeutics. – 2016. – Vol. 24, No. 1. – P.75-84. DOI: 10.4062/biomolther.2015.069

133. Fotovvat, M. HPLC Fingerprint of Important Phenolic Compounds in Some *Salvia L.* Species from Iran / M. Fotovvat, T. Radjabin, A. Saboora // Records of Natural Products. – 2019. – Vol. 13, No. 1 – P. 37-49. DOI: 10.25135/RNP.72.18.02.228.

134. Gericke, S. Identification of New Compounds from Sage Flowers (*Salvia officinalis* L.) as Markers for Quality Control and the Influence of the Manufacturing Technology on the Chemical Composition and Antibacterial Activity of Sage Flower Extracts / S. Gericke, T. Lübken, D. Wolf, M. Kaiser, C. Hannig, K. Speer // J. Agric. Food Chem. – 2018. – Vol. 66, No. 8. – P. 1843–1853. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b00581

135. Ghorbani, A. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components / A. Ghorbani, M. Esmaeilizadeh // J Tradit Complement Med. –2017. – Vol.7, N. 4. – P. 433-440. DOI: 10.1016/j.jtcme.2016.12.014

136. Giuliani, C. *Salvia verticillata*: Linking glandular trichomes, volatiles and pollinators / C. Giuliani, R. Ascrizzi, D. Lupi, G. Tassera, L. Santagostini, M. Giovanetti, G. Flamini, G. Fico // *Phytochemistry*. – 2018. – Vol. 155. – P. 53-60. DOI: 10.1016/j.phytochem.2018.07.016

137. González-Gallegos, J.G. Richness and distribution of *Salvia* subg. *Calosphace* (*Lamiaceae*) / J.G. González-Gallegos, B.Y. Bedolla-García, G. Cornejo-Tenorio, J.L. Fernández-Alonso, I. Fragoso-Martínez, M.d.R. García-Peña, R.M. Harley, B. Klitgaard, M.J. Martínez-Gordillo, J.R.I. Wood, S. Zamudio, S. Zona, C.C. Xifreda // *Int. J. Plant Sci.* – 2020. – Vol. 181, No. 8. – P. 831–856. DOI: 10.1086/709133

138. Grausgruber-Gröger, S. Seasonal influence on gene expression of monoterpene synthases in *Salvia officinalis* (*Lamiaceae*) / S. Grausgruber-Gröger, C. Schmiderer, R. Steinborn [et al.] // *Journal of Plant Physiology*. - Vol. 169. -№4. -2012. - P. 353-359.

139. Habtemariam, S. Anti-Inflammatory Therapeutic Mechanisms of Natural Products: Insight from Rosemary Diterpenes, Carnosic Acid and Carnosol / S. Habtemariam // *Biomedicines*. – 2023. – Vol. 11, No. 2. – P. 1-26 DOI: 10.3390/biomedicines11020545

140. Hanganu, D. Evaluation of polyphenolic profile and antioxidant activity for some *Salvia* species / D. Hanganu, N.-K. Olah, C. E. Pop, L. Vlase, I. Oniga, N. Ciocarlan, A. Matei, C. Pușcaș, R. Silaghi-Dumitrescu, D. Benedec // *Farmacia*. – 2019. – Vol. 67, No. 5. – P.801-805. DOI:10.31925/farmacia.2019.5.8.

141. Hu, G.-X. Phylogeny and staminal evolution of *Salvia* (*Lamiaceae*, *Nepetoideae*) in East Asia / G.-X. Hu, A. Takano, B.T. Drew, E.-D. Liu, D.E. Soltis, P.S. Soltis, H. Peng, C.-L. Xiang // *Annals of Botany*. – 2018. – No. 122. – P. 649–668. DOI: 10.1093/aob/mcy104

142. Janicsak, G. Study of the oleanolic and ursolic acid contents of some species of the *Lamiaceae* / G. Janicsak, K. Veres, A.Z. Kakasy, I. Mathe // *Biochemical Systematics and Ecology*. – 2006. – Vol. 34, No. 5. – P. 392-396. DOI:10.1016/j.bse.2005.12.004

143. Jedidi, S. Antioxidant Properties of *Salvia officinalis* Decoction Extract and Mechanism of Its Protective Effects on Ethanol-Induced Liver and Kidney Injuries / S. Jedidi, F. Aloui, S. Selmi, H. Selmi, H. Sammari, A. Ayari, C. Abbes, H. Sebai // Journal of Medicinal Food. – 2022. Vol. 25, No. 5. – P. 546-556. DOI: 10.1089/jmf.2021.0134

144. Jesionek, W. Screening of antibacterial compounds in *Salvia officinalis* L. tincture using thin-layer chromatography—direct bioautography and liquid chromatography—tandem mass spectrometry techniques / W. Jesionek, B. Majer-Dziedzic, G. Horváth, Á.M. Móricz, I.M. Choma // JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern Tlc. – 2017. – Vol. 30, N. 5. – P. 357-362.

145. Kallimanis, P. H-qNMR as a Tool for the Quantitative and Qualitative Evaluation of Abietane-Type Diterpenes in *Lamiaceae* Species Cultivated in Greece / P. Kallimanis, P. Magiatis, T. Tsiaka, P. Zoumpoulakis, A. Panagiotopoulou, I.Chinou // Applied Sciences. – 2025. – Vol. 15, No. 15 (8361). – P. 1-16. DOI: 10.3390/app15158361

146. Kallimanis, P. Quantitative and qualitative evaluation of 60 *Labiatae* species, growing in Greece, regarding the content of selected abietane-type diterpenes using <sup>1</sup>H-qNMR / P. Kallimanis, P. Magiatis, T. Tsiaka, P. Zoumpoulakis, A. Panagiotopoulou, I. Chinou // Planta Medica. – 2021. Vol. 87, No. 15. – P.1274. DOI: 10.1055/s-0041-1736860

147. Kalnyuk, J.V. Taxonomy, Phylogeny, Genomes, and Repeatomes in the Subgenera *Salvia*, *Sclarea*, and *Glutinaria* (*Salvia*, *Lamiaceae*) / J.V. Kalnyuk, O.Y. Yurkevich, E.D. Badaeva, A.R. Semenov, S.A. Zoshchuk, A.V. Amosova, O.V. Muravenko // International Journal of Molecular Sciences. – 2025. – Vol. 26, No 13 (6436). – P. 1-18. DOI: 10.3390/ijms26136436

148. Khiya, Z. Correlation of total polyphenolic content with antioxidant activity of hydromethanolic extract and their fractions of the *Salvia officinalis* leaves from different regions of Morocco / Z. Khiya, Y. Oualcadi, A. Gamar, F. Berrekhis, T. Zair, F. EL Hilali // Journal of Chemistry. – 2021. – Vol 2021, No. 1. – P. 1-11. DOI: 10.1155/2021/8585313

149. Khosravi, D.N. Cytotoxic Activity of the Essential Oil of *Salvia verticillata* L. / D.N. Khosravi, S.N. Ostad, N. Maafi, S. Pedram, Y. Ajani, A. Hadjiakhoondi, M. Khanavi // Research Journal of Pharmacognosy. – 2014. – No. 1 (3). – P. 27–33.

150. Köksal, Z. Anticholinesterase and carbonic anhydrase inhibitory activities of natural carnosic acid derivatives: A comprehensive in vitro and in silico study / Z. Köksal, H. Şenol // Archiv der Pharmazie. – 2025. – Vol. 358, No. 3. – P. 1-17. DOI: 10.1002/ardp.202400909

151. Kontogianni, V.G. Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity / V.G. Kontogianni, G. Tomic, I. Nikolic, A.A. Nerantzaki, N. Sayyad, S. Stosic-Grujicic, I. Stojanovic, I.P. Gerothanassis, , A.G. Tzakos // Food Chem. – 2013. – Vol. 136, No. 1. – P. 120-129. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.07.091

152. Koshovyi, O. The Phytochemical and Chemotaxonomic Study of *Salvia* spp. Growing in Ukraine / O. Koshovyi, A. Raal, A. Kovaleva, M. Myha, T. Ilina, N. Borodina, A. Komissarenko // J. Appl. Biol. Biotechnol. – 2020. – Vol. 8, No. 3 – P. 29-36. DOI: 10.7324/JABB.2020.80306

153. Kostić, E. A chemometric approach to the headspace sampled volatiles of selected *Salvia* species from Southeastern Serbia / E. Kostić, D. Kitić, M. Vujović, M. Marković, A. Pavlović, G. Stojanović // Botanica Serbica. – 2022. – Vol. 46, No. 2. – P. 285-294. DOI: 10.2298/BOTSERB2202285K

154. Kunduhoglu, B. Antimicrobial and anticholinesterase activities of the essential oils isolated from *Salvia dicroantha* Stapf., *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* (Freyn and Bornm.) Bornm. and *Salvia wiedemannii* Boiss. // B. Kunduhoglu, M. Kurkcuoglu, M.E. Duru, M.E. Baser // Journal of Medicinal Plants Research. – 2011. – Vol. 5, No. 29. – P. 6484-6490. DOI: 10.5897/JMPR11.220

155. Leitch, I.J. Plant DNA C-values Database / I.J. Leitch, E. Johnston, J. Pellicer, O. Hidalgo, M.D. Bennett / Royal Botanic Gardens Kew. – Release 7.1. – 2019. [Интернет ресурс] URL:<https://cvalues.science.kew.org/> (дата обращения 10.01.2026).

156. Levaya, Y. A Review of Botany, Phytochemistry, and Biological Activities of Eight *Salvia* Species Widespread in Kazakhstan / Y. Levaya, G. Atazhanova, V. Gabe, K. Badekova // *Molecules*. – 2025. – Vol. 30, No. 5 (1142). – P. 1-49. DOI: 10.3390/molecules30051142

157. Levaya, Y.K. *Salvia dumetorum* essential oil: GC-MS analysis, antibacterial activity and effect on the formation of *Streptococcus mutans* biofilms / Y.K. Levaya, G.A. Atazhanova, T. Kacergius, S.A. Ivasenko, A.B. Marchenko, M.Y. Ishmuratova, M.K. Smagulov // *Natural Product Research* – 2024. – Vol. 38, No. 20. – P. 3555–3561. DOI: 10.1080/14786419.2023.2256019.

158. Luca, S.V. Chemical Profile and Bioactivity Evaluation of *Salvia* Species from Eastern Europe / S.V. Luca, K. Skalicka-Woźniak, C.T. Mihai, A.C. Gradinaru, A. Mandici, N. Ciocarlan, A. Miron, A.C. Aprotosoai // *Antioxidants*. — 2023. — Vol. 12, No. 8 (1514) – P. 2-21. DOI:10.3390/antiox12081514

159. Mantzourani, C. Carnosic Acid and Carnosol: Analytical Methods for Their Determination in Plants, Foods and Biological Samples / C. Mantzourani, P.A. Tarantilis, M.G. Kokotou // *Separations*. – 2023. – Vol. 10, No. 481. – P. 481. <https://doi.org/10.3390/separations10090481>

160. Mervić, M. Comparative Antioxidant, Anti-Acetylcholinesterase and Anti- $\alpha$ -Glucosidase Activities of Mediterranean *Salvia* Species / M. Mervić, M. Bival Štefan, M. Kindl, B. Blažeković, M. Marijan, S. Vladimir-Knežević // *Plants*. – 2022. – Vol. 11, No. 5. – P. 1-18. DOI:10.3390/plants11050625

161. Munné-Bosch, S. Diterpenes and antioxidative protection in drought-stressed *Salvia officinalis* plants / S. Munné-Bosch, M. Mueller, K. Schwarz, L. Alegre // *Journal of plant physiology*. – 2001. – Vol. 158, No. 11. – P. 1431-1437.

162. Neuroprotective Potential of Aromatic Herbs: Rosemary, Sage, and Lavender / A. Faridzadeh<sup>1</sup>, Y. Salimi, H. Ghasemirad, M. Kargar, A. Rashtchian, G. Mahmoudvand, M. A. Karimi, N. Zerangian, N. Jahani, A. Masoudi, B.S. Dastjerdi, M. Salavatizadeh, H. Sadeghsalehi, N. Deravi // *Frontiers in Neuroscience*. – 2022. – Vol. 16. – P. 1-16. DOI:10.3389/fnins.2022.909833

163. Pérez-Fons, L. Relationship between the Antioxidant Capacity and Effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Polyphenols on Membrane Phospholipid Order / L. Pérez-Fons, M.T. Garzón, V. Micol // *Agricultural and Food Chemistry*. – 2010. – Vol. 58, No. 1. – P. 161-171. DOI: 10.1021/jf9026487
164. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. – 2005. – Vol.1.
165. Pop, A.V. Evaluation of Antioxidant Activity and Phenolic Content in Different *Salvia officinalis* L. Extracts Home / A.V. Pop, M. Tofană, S.A. Socaci, D. Vârban, M. Nagy, M.D. Borș, S. Sfechiș // *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca: Food Science and Technology*. – 2015. – Vol. 72, No. 2. – P. 210-214. DOI: <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:11582>
166. Proshkin, B. Using petiole anatomy to identify hybrids between and species of *Populus* sections Aigeiros and Tacamahaca / B. Proshkin, A. Klimov // *Turczaninowia*. – 2019. – Vol. 22, No 3. – P. 80–90.
167. Rashidi, A. Evaluation of antifungal effect of *Lavandula officinalis*, *Salvia officinalis* L., *Sumac*, *Glycyrrhiza glabra* and *Althoea officinalis* extracts on *Aspergillus Niger*, *Aspergillus Fumigatus* and *Aspergillus Flavus* species / A. Rashidi, B. Mousavi, M. R. Rahmani, Mohammad A. Rezaee, W. Hosaini, Y. Motaharinia, B. Davari, G. Zamini // *Journal of Medicinal Plants Research*. – 2011. – Vol. 6, No. 2. – P. 309-313. DOI:10.5897/JMPR11.1458
168. Rzepa, J. Fingerprint of selected *Salvia* species by HS-GC-MS analysis of their volatile fraction / J. Rzepa, L. Wojtal, D. Staszek, G. Grygierczyk, K. Labe, M. Hajnos, T. Kowalska, M. Waksmundzka-Hajnos // *Journal of chromatographic science*. – 2009. – Vol. 47, No. 7. – P. 575–580. DOI: 10.1093/chromsci/47.7.575.
169. Salamatina, A.A. Extraction of aromatic abietane diterpenoids from *Salvia officinalis* leaves by petroleum ether: Data resolution analysis / A.A. Salamatina, A.S. Khaliullina, R.Sh. Khaziev // *Industrial Crops and Products*. – 2020. – Vol. 143, N. 111909. – P.1-9. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111909>.
170. Semenchenko, O.M. Determination of volatile compounds of essential oils of different species of genus of *Salvia* by chromatography-mass spectrometric method /

O.M. Semenchenko, O.O. Tsurkan, O.A. Korableva, O.V. Burmaka // Farmatsevtichnyi zhurnal. – 2013. – No. 1. – P. 62-65.

171. Solmi, L. Polyamine-mediated mechanisms contribute to oxidative stress tolerance in *Pseudomonas syringae* / L. Solmi, F.R. Rossi, F.M. Romero, M. Bach-Pages, G.M. Preston, O.A. Ruiz, A. Garriz // Scientific Reports. – 2023. – Vol. 13, No. 1. – P. 4279. DOI: 10.1038/s41598-023-31239-x

172. Šulniūtė, V. Phytochemical composition of fractions isolated from ten *Salvia* species by supercritical carbon dioxide and pressurized liquid extraction methods / V. Šulniūtė, A. Pukalskas, P.R. Venskutonis // Food chemistry. – 2017. – Vol. 224. – P. 37-47. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.12.047

173. Šulniūtė, V. Comparison of composition of volatile compounds in ten *Salvia* species isolated by different methods / V. Šulniūtė, R. Baranauskienė, O. Ragažinskienė ir R. Venskutonis // Flavour and Fragrance Journal. – 2017. – Vol. 32, No. 4. – P. 254-264. DOI: 10.1002/ffj.3389.

174. Tabanca, N. The chemical composition of *Salvia verticillata* L. subsp. *verticillata* from Turkey / N. Tabanca, B. Demirci, Z. Aytaç, K. H. C. Başer // Natural Volatiles and Essential Oils. – 2017. – Vol. 4, No. 1. – P. 18-28.

175. The Japanese Pharmacopoeia 17th edition (JP XVII) English translation. - MHLW, 2016

176. Tomou, E.M. Chemometric analysis evidencing the variability in the composition of essential oils in 10 *Salvia* species from different taxonomic sections or phylogenetic clades / E.M. Tomou, P. Fraskou, K. Dimakopoulou, E. Dariotis, N. Krigas, H. Skaltsa // Molecules. – 2024. – Vol. 29, No. 7 (1547) – P. 1-30. DOI: 10.3390/molecules29071547.

177. United States Pharmacopeia 44 – NF 39 – 2021

178. Usher, J. Simona and Pasquino: «*Cur Moriatur Homo Cui Salvia Crescit in Horto?*» / J. Usher // MLN. – 1991. – Vol. 106, No. 1. – P. 1-14

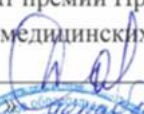

179. Wellmann, J. Comprehensive Metabolite Profiling of *Salvia officinalis* Using Ultra-High-Performance Liquid Chromatography–Electrospray Ionization–Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry / J. Wellmann, C. Tränkner, N. Dostert,

E.C. Schwarze, S. Hillebrand, J.P. Ley, P. Winterhalter / J. Agric. Food Chem. – 2018. –  
п Vol. 66, N.15. – P. 3937–49. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b00581.

180. WFO (2026): World Flora Online. Published on the Internet;  
<http://www.worldfloraonline.org> (дата обращения: 15.01.2026)

## Приложение 1. Акты о внедрении результатов диссертационного исследования

**«Утверждаю»**

Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,  
лауреат премии Правительства РФ,  
доктор медицинских наук, профессор  
  
И.Л. Давыдкин  
« 2 »  2025 г.

**АКТ**

о внедрении результатов диссертационной работы Егорова Никиты Павловича «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода Шалфей (*Salvia L.*)» на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) на кафедре фармацевтической технологии с курсом биотехнологий — базовой кафедры «Озон Фармацевтика» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий — базовой кафедры «Озон Фармацевтика»: зав. кафедрой, д.фарм.н., профессора Куркиной А.В., доцента кафедры, к.фарм.н. Желонкина Н.Н., доцента кафедры, к.фарм.н., доцента Климовой Л.Д. подтверждает использование материалов диссертационного исследования Н.П. Егорова, посвящённого исследованию химического состава, а также разработке методик анализа сырья некоторых видов рода Шалфей, определению диагностических признаков, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-исследовательской работе в области технологических исследований по производству лекарственных препаратов на основе некоторых видов рода Шалфей.

Используемые при этом результаты изучения химического состава, а также разработанные подходы к стандартизации сырья являются методической и методологической основой для научного обоснования ресурсосберегающих технологий.

**Члены комиссии:**

Зав. кафедрой фармацевтической технологии с курсом биотехнологий — базовой кафедры «Озон Фармацевтика», д.фарм.н., профессор

 А.В. Куркина

Доцент кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий — базовой кафедры «Озон Фармацевтика», к.фарм.н.

 Н.Н. Желонкин

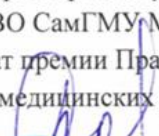
Доцент кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий — базовой кафедры «Озон Фармацевтика», к.фарм.н., доцент

 Л.Д. Климова

Директор Института фармации,  
д.фарм.н., профессор

 А.В. Воронин

«Утверждаю»

Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,  
лауреат премии Правительства РФ,  
доктор медицинских наук, профессор  
  
И.Л. Давыдкин  
\_\_\_\_\_ 2025 г.

**АКТ**

о внедрении результатов диссертационной работы Егорова Никиты Павловича  
«Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода Шалфей  
(*Salvia L.*)» на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по  
специальности 3.4.2. 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 Куркина В.А., профессора кафедры, д.фарм.н., профессора Правдивцевой О.Е., доцента кафедры, д.фарм.н., доцента Браславского В.Б., подтверждает использование материалов диссертационного исследования Н.П. Егорова, посвященного изучению вопросов фитохимической и морфолого-анатомической диагностики, обоснованию подходов к стандартизации растительного сырья и экстракционных препаратов на основе некоторых представителей рода Шалфей в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и ординаторами, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты способствуют решению вопросов стандартизации растительного сырья некоторых видов рода Шалфей.

**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

  
\_\_\_\_\_ О.Е. Правдивцева

Доцент кафедры фармакогнозии  
с ботаникой и основами фитотерапии,  
д.фарм.н., доцент

  
\_\_\_\_\_ В.Б. Браславский

Директор Института фармации,  
д.фарм.н., профессор

  
\_\_\_\_\_ А.В. Воронин

«Утверждаю»

Проректор по научной работе  
 ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,  
 лауреат премии Правительства РФ,  
 доктор медицинских наук, профессор  
 \_\_\_\_\_ **И.Л. Давыдкин**  
 «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Егорова Никиты Павловича «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода Шалфей (*Salvia L.*)» на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (Фармацевтические науки) в научно-образовательном центре «Фармация» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников научно-образовательного центра «Фармация» (НОЦ «Фармация»): директора, д.фарм.н. Рязановой Т.К., главного специалиста, к.фарм.н. Мубинова А.Р., главного специалиста Качалкиной И.В. подтверждает использование материалов диссертационного исследования Н.П. Егорова, посвящённого определению диагностических признаков, изучению химического состава с использованием современных инструментальных методов анализа и обоснованию подходов к стандартизации растительного сырья некоторых видов рода Шалфей в научно-исследовательской работе по изучению растительного сырья, содержащего флавоноиды и дитерпены.

Внедренные результаты диссертационного исследования способствуют решению вопроса стандартизации растительного сырья некоторых видов рода Шалфей.

**Члены комиссии:**

Директор НОЦ «Фармация»,  
 д. фарм. н.

 \_\_\_\_\_ Т.К. Рязанова

Главный специалист НОЦ «Фармация»,  
 к. фарм. н.

 \_\_\_\_\_ А.Р. Мубинов

Главный специалист НОЦ «Фармация»

 \_\_\_\_\_ И.В. Качалкина

Директор Института фармации,  
 д.фарм.н., профессор

 \_\_\_\_\_ А.В. Воронин

«Утверждаю»

Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,  
лауреат премии Правительства РФ,  
доктор медицинских наук, профессор  
И.Л. Давыдкин  
«22» августа 2025 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Егорова Никиты Павловича «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода Шалфей (*Salvia L.*)» на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) на кафедре химии Института фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия, в составе сотрудников кафедры химии Института фармации: зав. кафедрой, д.фарм.н., профессора Воронина А.В., доцента кафедры, к.хим.н., доцента Шариповой С.Х., доцента кафедры, к.биол.н., доцента Расцвевой Н.В., подтверждает использование материалов диссертационного исследования Н.П. Егорова, посвящённого изучению химического состава, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации растительного сырья и экстракционных препаратов на основе сырья некоторых видов рода Шалфей, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-исследовательской работе в области изучения лекарственного растительного сырья, содержащего фенольные соединения.

Внедрённые результаты способствуют решению вопроса стандартизации растительного сырья и экстракционных препаратов на основе некоторых видов рода Шалфей.

**Члены комиссии:**

Зав. кафедрой химии Института фармации,  
д. фарм. н., профессор

А.В. Воронин

Доцент кафедры химии Института фармации,  
к.хим.н., доцент

С.Х. Шарипова

Доцент кафедры химии Института фармации,  
к.биол.н., доцент

Н.В. Расцвеева

Директор Института фармации,  
д.фарм.н., профессор

А.В. Воронин

«Утверждаю»  
 Директор  
 Средне-Волжского филиала  
 ФГБНУ "Всероссийский научно-  
 исследовательский институт  
 лекарственных и ароматических растений"  
  
 В.Н. Сетин  
 \_\_\_\_\_ 2025 г.

### АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Егорова Никиты Павловича  
 «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода Шалфей»  
 на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности  
 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки)  
 в Средне-Волжском филиале ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский  
 институт лекарственных и ароматических растений"

Комиссия в составе сотрудников Средне-Волжского филиала ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений": научного сотрудника С. Ю. Акутиной, научного сотрудника А.Н. Загорянского, подтверждает использование материалов диссертационного исследования Н.П. Егорова, посвященного изучению химического состава, а также разработке методик анализа сырья листьев шалфея лекарственного, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья – «Шалфея лекарственного листа» и лекарственного растительного препарата – «Шалфея лекарственного листьев настойка» в работе института.

Разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы института. Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов на основе шалфея лекарственного.

Члены комиссии:

Научный сотрудник Средне-Волжского филиала  
 ФГБНУ "Всероссийский  
 научно-исследовательский институт лекарственных  
 и ароматических растений"



С.Ю. Акутина

Научный сотрудник Средне-Волжского филиала  
 ФГБНУ "Всероссийский  
 научно-исследовательский институт лекарственных  
 и ароматических растений"



А.Н. Загорянский

«Утверждаю»

Директор

ООО «НикВиФарм»

Н.П. Егоров

« 11 »

2026 г.

**АКТ**

о внедрении результатов диссертационной работы Егорова Никиты Павловича «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода Шалфей (*Salvia L.*)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) в ООО «НикВиФарм»

Комиссия, в составе учредителей ООО «НикВиФарм»: Н.П. Егорова, В.М. Рыжова, подтверждает использование материалов диссертационного исследования Н.П. Егорова, посвящённого исследованию химического состава, а также разработке методик анализа сырья листьев шалфея лекарственного, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья.

Разработанные методики качественного и количественного анализа входят в основу НД для средства на основе шалфея лекарственного.

Члены комиссии:

Учредитель ООО «НикВиФарм»

Н.П. Егоров

Учредитель ООО «НикВиФарм»

В.М. Рыжов

## Приложение 2. Патенты на изобретение

**РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ**



**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ  
**№ 2835171**

**ПРИМЕНЕНИЕ НАСТОЙКИ ШАЛФЕЯ В КАЧЕСТВЕ  
ПРОТИВОГРИБКОВОГО СРЕДСТВА В  
ОТНОШЕНИИ MUCOR MUCEDO**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Куркин Владимир Александрович (RU), Егоров Никита Павлович (RU), Рыжов Виталий Михайлович (RU), Лямин Артем Викторович (RU), Козлов Андрей Владимирович (RU)*

Заявка № **2024110721**  
Приоритет изобретения **18 апреля 2024 г.**  
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **24 февраля 2025 г.**  
Срок действия исключительного права на изобретение истекает **18 апреля 2044 г.**

*Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности*

*Ю.С. Зубов*

документ подписан электронной подписью  
Сертификат: 069276326.УОС.СБ.0240167010ea2026  
Владелец: **Зубов Юрий Сергеевич**  
Действителен с 10.07.2024 по 03.10.2025



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

**№ 2835714**

**ПРИМЕНЕНИЕ НАСТОЙКИ ШАЛФЕЯ В КАЧЕСТВЕ  
ПРОТИВОГРИБКОВОГО СРЕДСТВА В  
ОТНОШЕНИИ SCOPULARIOPSIS BREVICAULIS**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
"Самарский государственный медицинский университет"  
Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Куркин Владимир Александрович (RU), Егоров Никита  
Павлович (RU), Рыжов Виталий Михайлович (RU), Лямин  
Артем Викторович (RU), Козлов Андрей Владимирович (RU)*

Заявка № 2024110554

Приоритет изобретения 17 апреля 2024 г.

Дата государственной регистрации  
в Государственном реестре изобретений  
Российской Федерации 03 марта 2025 г.

Срок действия исключительного права  
на изобретение истекает 17 апреля 2044 г.

*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ  
Сертификат: 0692e781eac300c854d260b70bca2026  
Владелец: **Зубов Юрий Сергеевич**  
Действителен с 10.07.2024 по 03.10.2025

*Ю.С. Зубов*



# РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ  
№ 2837771

### ПРИМЕНЕНИЕ НАСТОЙКИ ШАЛФЕЯ В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВОГРИБКОВОГО СРЕДСТВА В ОТНОШЕНИИ ШТАММОВ РОДА ASPERGILLUS

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2024110853  
Приоритет изобретения 19 апреля 2024 г.  
Дата государственной регистрации  
в Государственном реестре изобретений  
Российской Федерации 04 апреля 2025 г.  
Срок действия исключительного права  
на изобретение истекает 19 апреля 2044 г.

*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*

документ подписан электронной подписью  
Сертификат 0692e703e2100c1544261670bca2026  
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**  
Действителен с 10.04.2024 по 03.10.2025

*Ю.С. Зубов*



### Приложение 3. Сертификат качества СО карнозоловой кислоты



湖南一科生物科技有限公司  
HUNAN E.K HERB CO., LTD.

#### CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name	Rosemary P.E.	Batch No	EKSWCS-20230703C
Botanical source	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Part of plant used	leaf
Manufacturing Date	July. 03 <sup>th</sup> , 2023	Batch quantity	100.00KG
Analysis Date	July. 11 <sup>th</sup> , 2023	Report Date	July. 14 <sup>th</sup> , 2023
Method of analysis	HPLC	CAS#	3650-09-7



#### Content Test

Analysis Item	Specification	Result
<b>Carnosic Acid</b>	≥95%	95.35%

#### Quality control

Appearance	Light yellow powder	Conforms
Particle size	95% pass 80 mesh	Conforms
Loss on drying	≤3.0%	1.26%
Ash Content	≤1.0	0.45%
Heavy metal	≤10ppm	Conforms
Arsenic	<1ppm	Conforms
Lead	<5ppm	Conforms
Mercury	<0.1ppm	Conforms
Cadmium	<0.1ppm	Conforms
Pesticides	Negative	Conforms
Solvent residences	≤0.01%	Conforms

#### Microbiological indicator:

Total Plate Count	≤1000cfu/g	Conforms
Yeast & Mold	≤100cfu/g	Conforms
E.coli	Negative	Conforms
Salmonella	Negative	Conforms

#### Others:

Storage	Store in tight containers, in a cool dry area.
Shelf life	Two years
Packing	Double food plastic container bag inside; Aluminum foil bag outside; 25kgs/drum.

Report: Yang Jun

Inspect: Wen Manjiao

QC manager: Luo Jie

Office: 3rd Floor, Building 2D, Depu Enterprise, No.1, LuoSiTang Road, Xingsha, Changsha, Hunan, PRC  
 Factory addr. 1: National Biological Industry Base, Liuyang Biomedical Park, Changsha, Hunan, PRC  
 Factory addr. 2: South Park of Industrial Park, Longquan Town, Xintian County, Yongzhou, Hunan, PRC  
 Tel: 0731-82955618 Email: [belinda@ekherb.com](mailto:belinda@ekherb.com) web: [www.ekherb.com](http://www.ekherb.com)

## Приложение 4. $^1\text{H}$ -ЯМР-, $^{13}\text{C}$ -ЯМР- и масс-спектры индивидуального соединения, выделенного из листьев шалфея дубравного

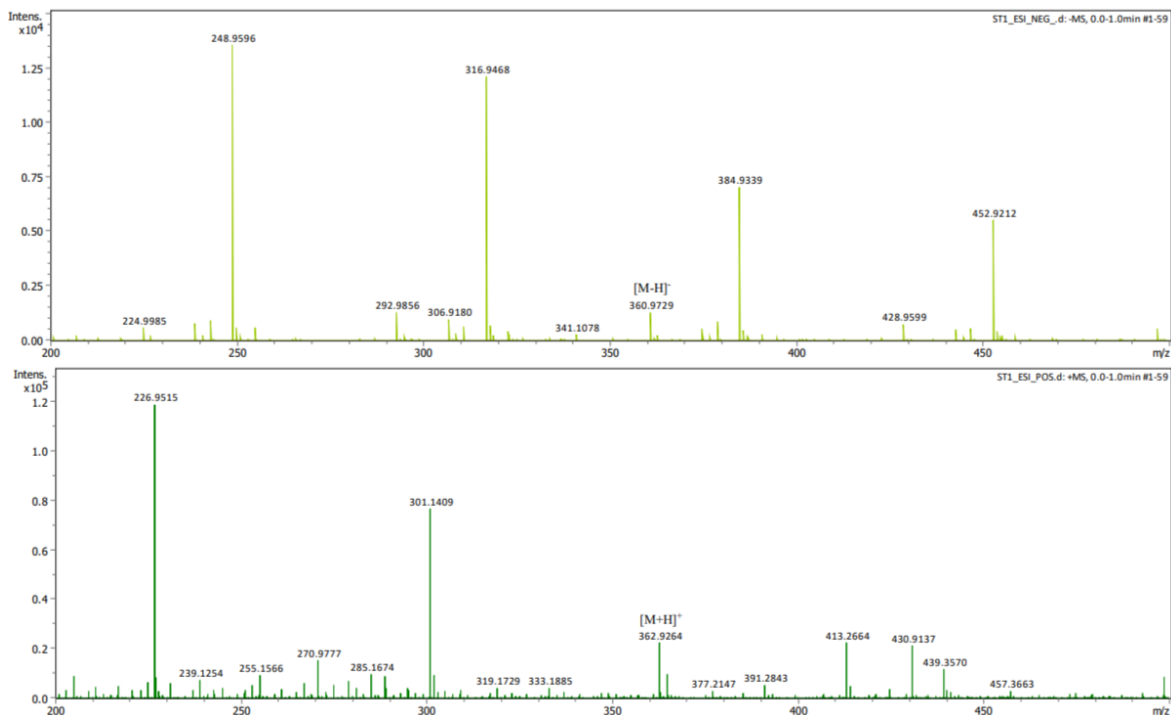


Рисунок 1 – Масс-спектр олеаноловой кислоты.

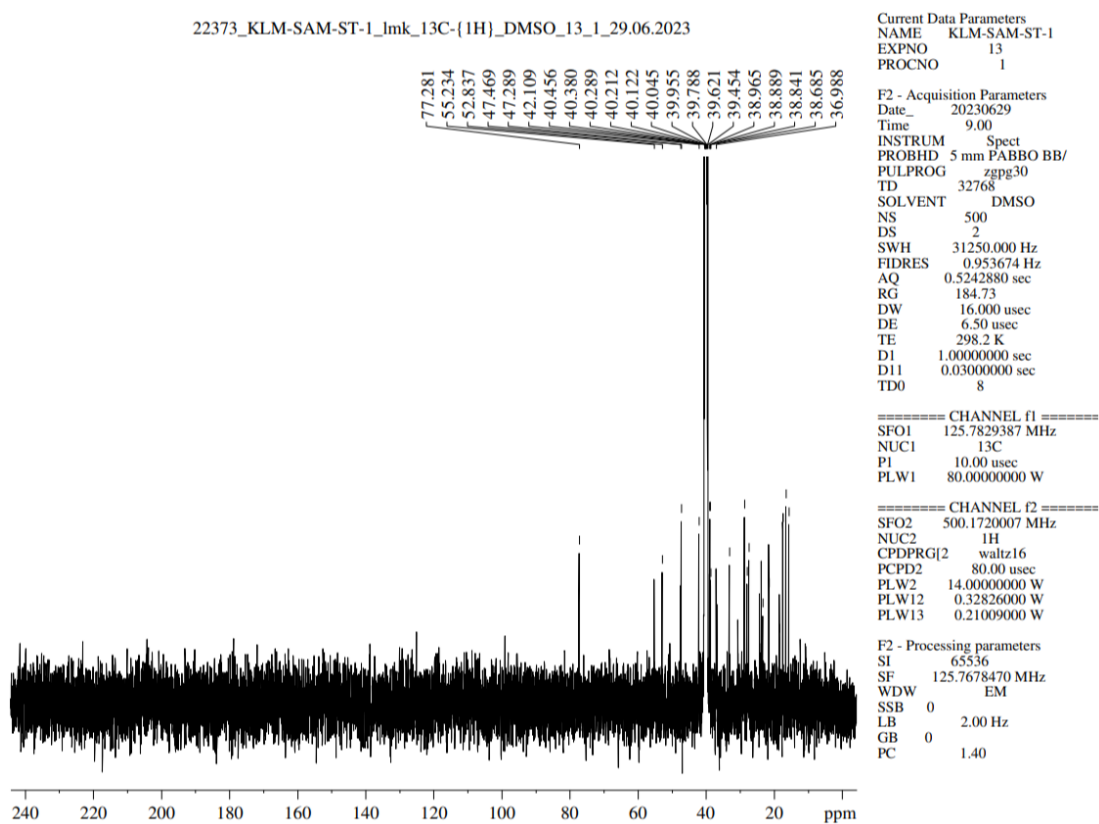


Рисунок 2 –  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр олеаноловой кислоты в ДМСО- $d_6$ .

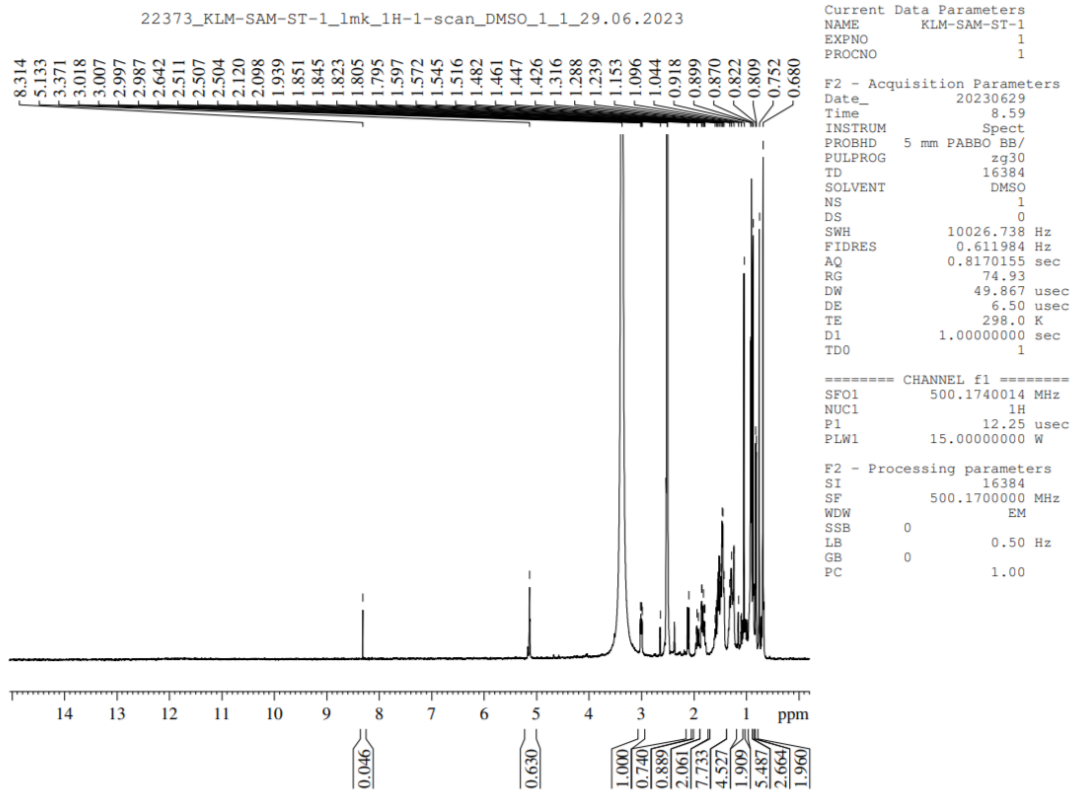


Рисунок 3 –  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр олеаноловой кислоты в ДМСО-d<sub>6</sub>.

## Приложение 5. $^1\text{H}$ -ЯМР-, $^{13}\text{C}$ -ЯМР- и масс-спектры индивидуального соединения, выделенного из листьев шалфея мутовчатого

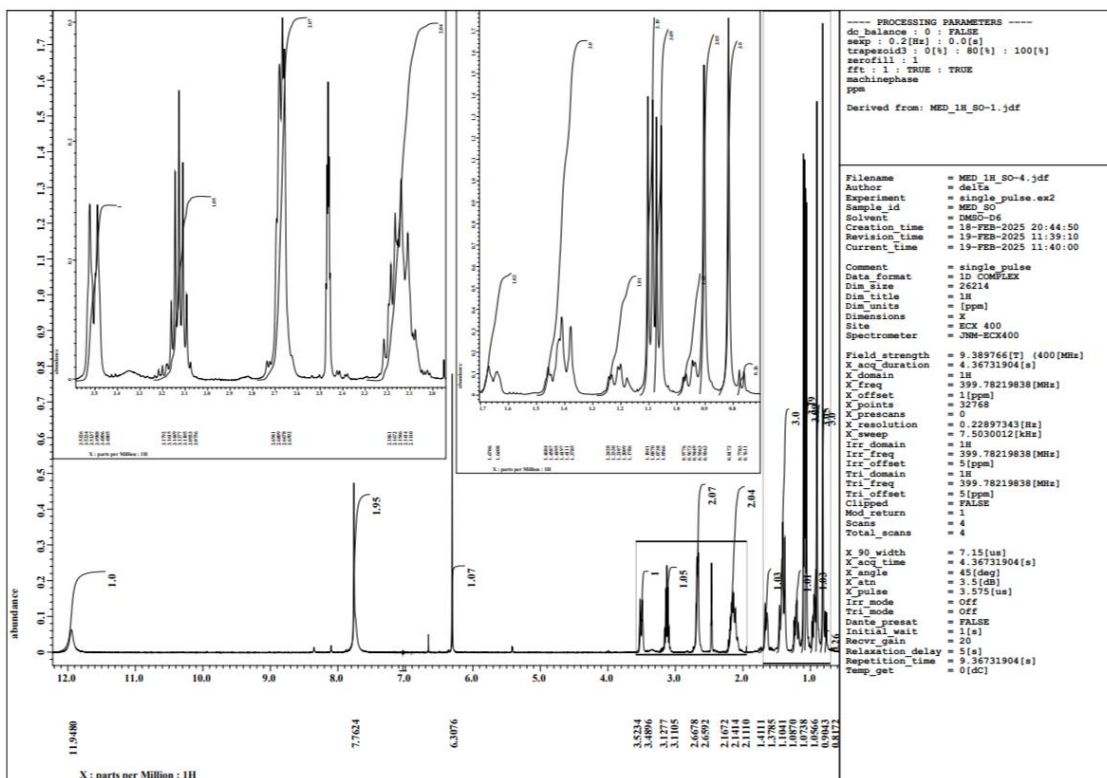


Рисунок 4 –  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр карнозоловой кислоты в  $\text{DMSO-d}_6$ .

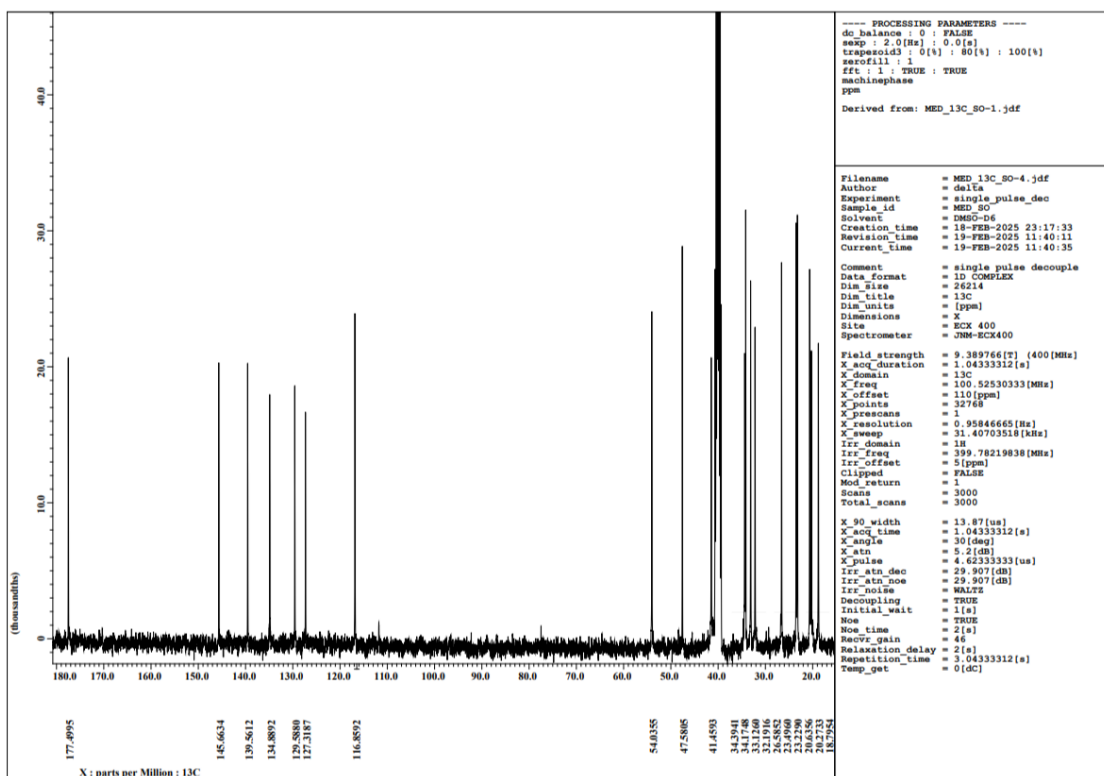


Рисунок 5 –  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр карнозоловой кислоты в  $\text{DMSO-d}_6$ .

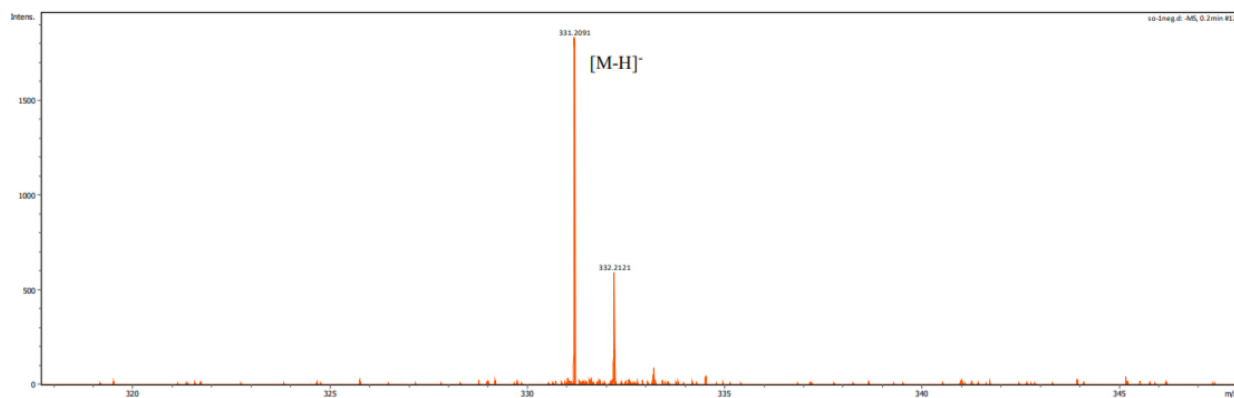


Рисунок 6 – Масс-спектр карнозоловой кислоты.



### Определение

Содержит:

- не менее 1,2 % суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид
- не менее 1,5 % суммы дитерпенов в пересчете на карнозоловую кислоту
- не менее 4,0 % суммы тритерпеноидов в пересчете на олеаноловую кислоту

### ИДЕНТИФИКАЦИЯ

**Дополнение к разделу «Микроскопические признаки»:**

#### 1. Цельное сырьё.

С поверхности листовой пластинки должны быть видны клетки эпидермы многоугольной формы с извилистыми клеточными стенками. Степень извилистости клеточных стенок значительно выше на нижней эпидерме. Клетки верхней эпидермы, слабоизвилистые. Над жилками клетки эпидермиса вытянутые, почти прямоугольной формы (рис. 1).

Листья должны быть гипостоматическими - устьица расположены на нижней стороне листа. Устьичные аппараты должны быть диацитного типа с двумя околоустьичными клетками, расположенными перпендикулярно устьичной щели.

На эпидерме с обеих сторон листовой пластинки должны диагностироваться эфиромасличные желёзки и железистые (головчатые) волоски. Желёзки округлой формы, с просвечивающейся по центру ножкой. Головка желёзки должна состоять из 6-ти 8-ми радиально расположенных клеток со светло-бурым протопластом и желтоватыми каплями эфирного масла. Головчатые волоски мелкие, состоят из короткой 1–3-клеточной ножки и шаровидной 1–2-клеточной головки, лучше заметны по краю и по жилке листа.

На поверхности эпидермы по жилкам должны диагностироваться простые кроющие одноклеточные и многоклеточные волоски. Простые

многочисленные волоски со слабопигментированным протопластом могут иметь изогнутую серповидную форму и слабо-бородавчатую кутикулу.

Черешок листа на поперечном сечении в медиальной части должен иметь очертания округлой формы с рёбрами «ушками», выступающими с верхней (адаксиальной) части среза и имеющими характерную каплевидную форму. Размеры черешка в поперечном сечении могут варьировать в ширину  $1,2 \pm 0,5$  мм и высоту  $1,5 \pm 0,5$  мм.

Клетки эпидермиса черешка на поперечном сечении мелкие, овальной формы с тонкой кутикулой. Эпидермис черешка должен быть опушён многочисленными простыми и головчатыми волосками. Простые волоски многоклеточные. Головчатые волоски состоят из короткой 1–3-клеточной ножки и шаровидной одноклеточной головки. По эпидермису черешка должны встречаться эфиромасличные желёзки. Желёзки округлой формы, с просвечивающейся по центру ножкой. Головка желёзки должна состоять из 6-ти 8-ми радиально расположенных клеток со светло-бурым протопластом и желтоватыми каплями эфирного масла.

Черешок на поперечном сечении должен быть армирован уголковой колленхимой, расположенной в 1 реже 3 слоя под эпидермисом с нижней стороны листа и до 5-ти слоёв колленхимы в рёбрах-ушках. Проводящая система черешка в медиальной части среза должна быть сложна из трёх закрытых коллатеральных пучка. Центральный пучок наиболее крупный из них расположен в центре. Два более мелких пучка округлой формы в боковых рёбрах-ушках. Центральный пучок может быть слабо разделён по центру на два пучка. Допускается наличие мелких вторичных пучков между центральным пучком и пучками в рёбрах.

Допускается наличие фрагментов стеблей с четырёхгранным профилем в поперечном сечении. Анатомически стебли должны быть переходного типа. По рёбрам в стеблях должна диагностироваться сильно выраженная уголковая колленхима. Ксилема первичных пучков в рёбрах стебля выражена сильнее, чем по граням. С периферии пучки в углах армированными группой

склеренхимных волокон. В центре стеблей должна диагностироваться крупноклеточная паренхима сердцевины.

### 2. Измельчённое сырьё.

При рассмотрении микропрепаратов должны быть видны фрагменты листовой пластинки с многоугольными слабоизвилистыми эпидермальными клетками (верхний эпидермис) и многоугольными извилистостенными эпидермальными клетками (нижний эпидермис); с устьицами диацитного типа, расположенными на нижней стороне листовой пластинки. Встречаются фрагменты листа и черешка с простыми и головчатыми волосками, с эфиромасличными желёзками.

Многочисленные волоски 2 типов: простые многоклеточные, нижние клетки их (чаще 2–4) короткие, со значительно утолщёнными стенками, верхняя клетка длинная, изогнутая, с тонкими стенками, и головчатые – мелкие, с короткой 1–3-клеточной ножкой и шаровидной 1–2-клеточной головкой. Эфиромасличные желёзки округлой формы, с просвечивающейся по центру ножкой. Головка желёзки должна состоять из 6-ти 8-ми радиально расположенных клеток со светло-бурым протопластом и желтоватыми каплями эфирного масла.

Допускается наличие фрагментов стеблей бурого, светло-желтого, реже буро-зелёного цвета.

### 3. Порошок.

В препарате должны диагностироваться преимущественно фрагменты листовых пластинок зелёного или буровато-зелёного цвета с вкраплением фрагментов черешков, фрагменты листовых пластинок с ксилемными элементами жилок, составленных из спиральных сосудов, фрагменты поперечных сечений листовой пластинки с выраженной дорзовентральной симметрией листа (рис. 2).

Фрагменты листа должны быть покрыты одно- и многоклеточными простыми кроющими трихомами. В порошке должны встречаться одиночные желёзки, и желёзки на поверхности фрагментов листовой пластинки.

Эфиромасличные желёзки округлой формы, с просвечивающейся по центру ножкой. Головка желёзки должна состоять из 6-ти 8-ми радиально расположенных клеток со светло-бурым протопластом и желтоватыми каплями эфирного масла. Реже могут диагностироваться головчатые волоски и фрагменты эпидермы с диацидными устьичными аппаратами.

Допускаются вытянутые фрагменты стеблевых элементов бурого, светло-желтого, реже буро-зелёного цвета. Фрагменты парехимных клеток сердцевины стебля сложенные из крупных пустотелых клеток с тонкими лигнифицированными оболочками. Фрагменты эпидермальных поверхностей стебля с полигональными, слабо-вытянутыми клетками эпидермы с местами прикрепления кроющих трихом с бурой пигментацией, а также лучисто-морщинистой кутикулой на поверхности эпидермы (рис. 3).

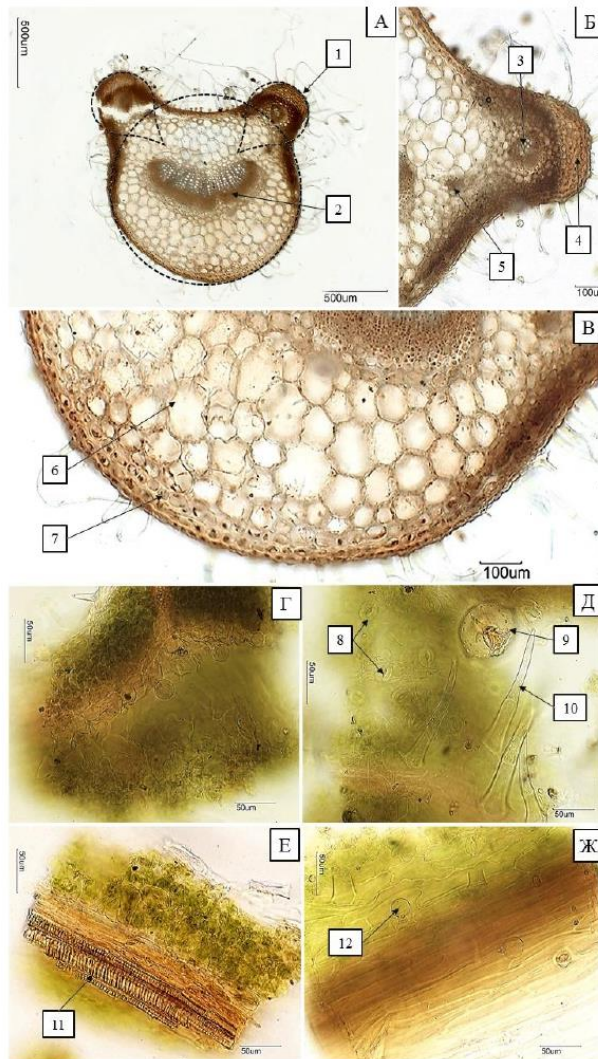


Рисунок 1 – Анатомо-гистологические признаки цельного сырья листьев ш. лекарственного: А – очертания поперечного сечения черешка в медиальной части ( $\times 40$ ), Б – рёбра-ушки ( $\times 100$ ), В – основная паренхима черешка ( $\times 100$ ),

Г – верхний эпидермис ( $\times 400$ ), Д – нижний эпидермис ( $\times 100$ ), Е – жилка листа ( $\times 100$ ), Ж – эпидермис над жилкой ( $\times 100$ ).

Обозначения: 1 – рёбра-ушки, 2 – центральный пучок, 3 – округлый пучок в ребре, 4 – угольная колленхима, 5 – мелкий вторичный пучок, 6 – основная паренхима, 7 – однослойная колленхима, 8 – диацидный тип устьичных аппаратов, 9 – желёзка, 10 – простой многоклеточный волосок со слабо-бородавчатой кутикулой, 11 – спиральные сосуды жилки листовой пластинки, 12 – головчатый волосок.

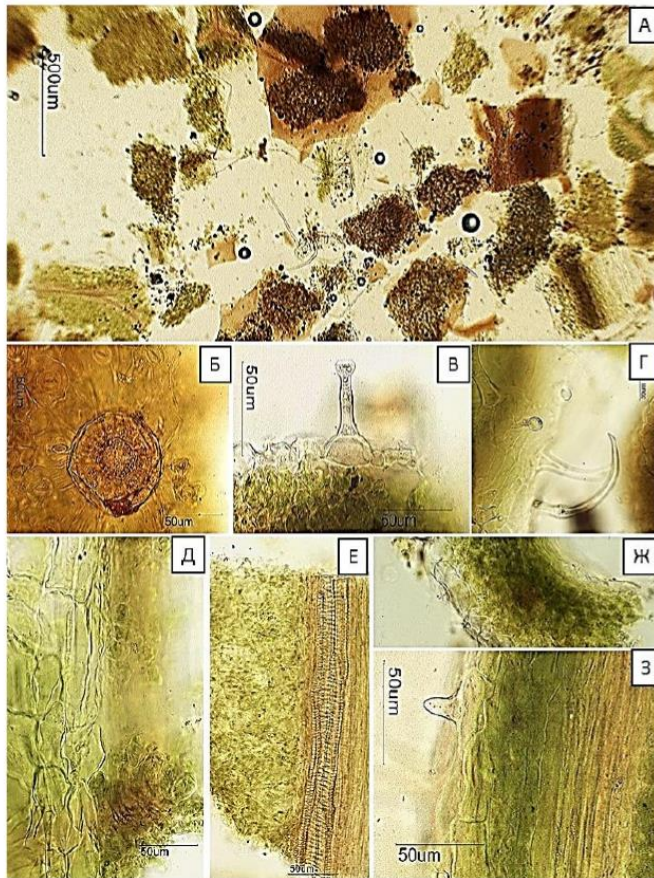


Рисунок 2 – Анатомо-гистологические признаки в порошке листьев ш. лекарственного: А – общий вид порошка при щелочной пробоподготовке ( $\times 40$ ), Б – фрагмент желёзки и эпидермиса листа с диацитными устьичными аппаратами ( $\times 400$ ), В – фрагмент листа с головчатым волоском ( $\times 400$ ), Г – фрагмент листа с простыми кроющими трихомами и мелкими головчатыми волосками ( $\times 400$ ), Д – фрагмент эпидермиса листа над жилкой ( $\times 400$ ), Е – жилка на просвете фрагмента листовой пластинки ( $\times 400$ ), Ж – фрагмент листовой пластинки на поперечном сечении ( $\times 400$ ), З – фрагмент края листовой пластинки с одноклеточным волоском ( $\times 400$ )

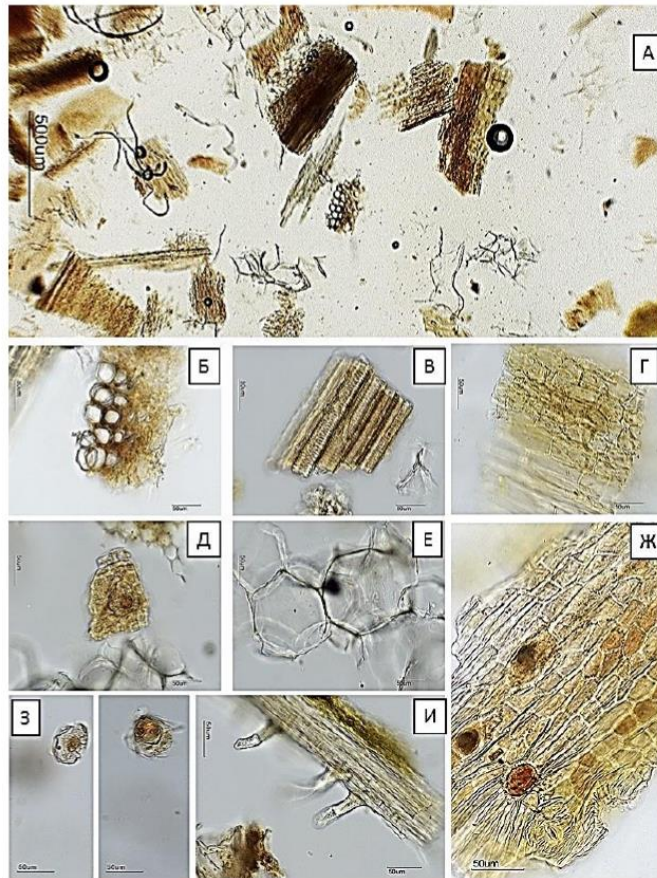


Рисунок 3 – Анатомо-гистологические признаки порошка стеблей ш. лекарственного: А – общий вид порошка стеблей ( $\times 40$ ), Б – фрагмент сосудов ксилемы на поперечном сечении ( $\times 400$ ), В – фрагмент сосудистых элементов сетчатого и спирального типа ( $\times 400$ ), Г – фрагмент основной хлорофиллоносной паренхимы стебля ( $\times 400$ ), Д – фрагмент эпидермиса стебля с железистой трихомой ( $\times 400$ ), Е – фрагмент клеток основной паренхимы сердцевины стебля ( $\times 400$ ), Ж – фрагмент эпидермиса стебля с лучистой кутикулой и устьичными аппаратами ( $\times 400$ ), З – одиночные желёзки в порошке стеблей ( $\times 400$ ), И – фрагмент стебля с простыми кроющими трихомами ( $\times 400$ )

**Дополнение к разделу «Определение основных групп биологически активных веществ»**

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

1. *Определение лютеолин-7-глюкозида (цинарозида), рутина и розмариновой кислоты*

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ):* этилацетат – муравьиная кислота безводная – вода очищенная (14:3:3)

*Раствор стандартного образца (СО) цинарозида:* Около 0,005 г (точная навеска) СО цинарозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл 70 % спирта этилового при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70 % спиртом этиловым до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор СО рутина:* Около 0,005 г (точная навеска) СО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл 70 % спирта этилового при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70 % спиртом этиловым до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор СО розмариновой кислоты:* Около 0,005 г СО розмариновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл 96 % спирта этилового при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 96 % спиртом этиловым до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Испытуемый раствор:* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл 70 % спирта этилового. 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 60 минут. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр с красной полосой и остужают в течение 30 минут.

*Реактив для детектирования.* Аллюминия хлорида раствор 3 % в спирте 96 % (ОФС.1.3.0001 «Реактивы. Индикаторы») и диазотированная сульфаниловая кислота в насыщенном растворе натрия карбоната (ДСК)

На линию старта аналитической хроматографической пластинки наносят 5 мкл испытуемого раствора и рядом по 10 мкл растворы СО цинарозида, СО рутина, СО розмариновой кислоты. Пластинку с нанесёнными пробами сушат, помещают в камеру с ПФ (без предварительного насыщения) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают аллюминия хлорида раствором 3% в спирте этиловом 96%, после чего просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции с голубой флуоресценцией на уровне адсорбции СО розмариновой кислоты со значением  $R_f$  около 0,9; зона адсорбции с жёлтой флуоресценцией на уровне адсорбции СО цинарозида со значением  $R_f$  около 0,65; зона адсорбции с жёлтой флуоресценцией на уровне адсорбции СО рутина со значением  $R_f$  около 0,45. Допускается наличие других.

Далее пластинку обрабатывают раствором ДСК. При видимом свете на хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции с светло-бурой окраской на уровне адсорбции СО розмариновой кислоты со значением  $R_f$  около 0,9; зона адсорбции с жёлтой окраской на уровне адсорбции СО цинарозида со значением  $R_f$  около 0,65; зона адсорбции с жёлтой окраской на уровне адсорбции СО рутина со значением  $R_f$  около 0,45. Допускается наличие других.

2. *Определение олеаноловой кислоты, карнозоловой кислоты,  $\beta$ -ситостерин*

*Пластика.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ):* хлороформ – вода очищенная (19:1)

*Раствор СО карнозоловой кислоты.* Около 0,005 г (точная навеска) СО карнозоловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл 96 % спирта этилового при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 96 % спиртом этиловым до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор СО  $\beta$ -ситостерина.* Около 0,005 г (точная навеска) СО  $\beta$ -ситостерина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл 96 % спирта этилового при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 96 % спиртом этиловым до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор СО олеаноловой кислоты.* Около 0,005 г (точная навеска) СО олеаноловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл 96 % спирта этилового при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 96 % спиртом этиловым до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Испытуемый раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл 96 % спирта этилового. 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 60 минут.

Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр с красной полосой и остужают в течение 30 минут.

*Реактив для детектирования.* 20% раствор серной кислоты (ОФС.1.3.0001 «Реактивы. Индикаторы»)

На линию старта аналитической хроматографической пластинки наносят 5 мкл испытуемого раствора и рядом по 5 мкл растворы СО олеаноловой кислоты, СО  $\beta$ -ситостерина, СО карнозоловой кислоты. Пластинку с нанесёнными пробами сушат, помещают в камеру с ПФ (без предварительного насыщения) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают 20% раствором серной кислоты, после чего просматривают в видимом свете.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции с ярко-малиновой окраской на уровне адсорбции СО олеаноловой кислоты со значением  $R_f$  около 0,40; зона адсорбции с слабо-розовой окраской на уровне адсорбции СО олеаноловой кислоты со значением  $R_f$  около 0,52; зона адсорбции с чёрной окраской на уровне адсорбции СО карнозоловой кислоты со значением  $R_f$  около 0,10. Допускается наличие других.

#### Дополнение к разделу КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

*Сумма флавоноидов.* Определение проводят в соответствии с ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

*Исходный раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую

колбу со шлифом вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл 70 % спирта этилового. 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 60 минут. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр с красной полосой и остужают в течение 30 минут.

*Испытуемый раствор А.* 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 2 мл алюминия хлорида раствор 3 % в спирте 96 % и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (исследуемый раствор А).

*Раствор сравнения А.* 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96%.

*Исходный раствор СО цинарозида.* Около 0,02 г (точная навеска) СО цинарозида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 40 мл 70 % спирта этилового при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70 % спиртом этиловым до метки.

*Раствор сравнения СО цинарозида Б.* 2 мл исходного раствора СО цинарозида помещают в мерную колбу на 25 мл, добавляют 2 мл алюминия хлорида раствор 3 % в спирте 96 % и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (раствор СО цинарозида А).

*Раствор сравнения СО цинарозида Б.* 2 мл исходного раствора СО цинарозида помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96%.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора А через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 400 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения А.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО цинарозида Б в аналогичных условиях относительно раствора сравнения СО цинарозида Б.

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на цинарозид в сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 2 \cdot 100}{A_0 \cdot m_x \cdot 100 \cdot 25 \cdot 1 \cdot (100 - W)} \cdot 100\%,$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

$A_0$  – оптическая плотность раствора СО цинарозида Б;

$m_x$  – навеска сырья, г;

$m_0$  – навеска СО цинарозида, г;

$W$  – влажность сырья, %.

Допускается вычислять содержание суммы флавоноидов в пересчёте на цинарозид с использованием удельного показателя поглощения комплекса цинарозида с алюминия хлоридом по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot 30 \cdot 25 \cdot 100}{1 \cdot 388 \cdot m_x \cdot (100 - W)},$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

388 – удельный показатель поглощения комплекса цинарозида с алюминия хлоридом при длине волны 400 нм ( $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ );

$m_x$  – навеска сырья, г;

$W$  – влажность сырья, %.

**Сумма дитерпенов.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

**Исходный раствор.** Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл 96 % спирта

этилового. 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 60 минут. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр с красной полосой и остужают в течение 30 минут.

*Испытуемый раствор А.* 5 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объёмом спиртом этиловым 96 % до метки. Аликвоту 1 мл упаривают в фарфоровой чашке на водяной бане до сухого остатка. К сухому остатку добавляют 5 мл концентрированной серной кислоты и переносят в мерную колбу на 25 мл. Данную процедуру повторяют 3 раза. Объём раствора доводят концентрированной серной кислотой до метки.

*Раствор сравнения А.* Концентрированный раствор серной кислоты

*Исходный раствор СО карнозоловой кислоты Б.* Около 0,02 г (точная навеска) СО карнозоловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объём раствора спиртом этиловым 96 % до метки. 1 мл аликвоты помещают в мерную колбу на 25 мл, доводят объём раствора спиртом этиловым 96 % до метки. 2 мл аликвоты упаривают в фарфоровой чашке на водяной бане до сухого остатка. К сухому остатку добавляют 5 мл концентрированной серной кислоты и переносят в мерную колбу на 25 мл. Данную процедуру повторяют 3 раза. Объём раствора доводят концентрированной серной кислотой до метки.

*Раствором сравнения СО карнозоловой кислоты Б* является концентрированная серная кислота.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО карнозоловой кислоты Б в первые 10 мин на спектрофотометре при длине

волны 361 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения А.

Содержание суммы дитерпенов в пересчёте на карнозоловую кислоту в сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 2}{A_0 \cdot m_x \cdot 50 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 5 \cdot (100 - W)} \cdot 100\%,$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

$A_0$  – оптическая плотность раствора СО карнозоловой кислоты Б;

$m_x$  – навеска сырья, г;

$m_0$  – навеска СО карнозоловой кислоты, г;

$W$  – влажность сырья, %.

При отсутствии СО карнозоловой кислоты допускается вычислять расчет содержания суммы дитерпенов по экспериментально установленному значению удельного показателя поглощения:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 25}{m_x \cdot 609,75 \cdot 5 \cdot (100 - W)},$$

где  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А;

609,75 – удельный показатель поглощения комплекса олеаноловой кислоты Б при взаимодействии с концентрированной серной кислотой при длине волны 361 нм ( $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ );

$m_x$  – точная навеска сырья, г;

$W$  – влажность сырья, %.

**Сумма тритерпеноидов.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

*Испытуемый раствор А* готовят аналогично методу определения суммы дитерпенов.

*Исходный раствор СО олеаноловой кислоты В.* Около 0,02 г (точная навеска) СО олеаноловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью

50 мл, доводят объем раствора спиртом этиловым 96 % до метки. 1 мл аликвоты помещают в мерную колбу на 25 мл, доводят объем раствора спиртом этиловым 96 % до метки. 2 мл аликвоты упаривают в фарфоровой чашке на водяной бане до сухого остатка. К сухому остатку добавляют 5 мл концентрированной серной кислоты и переносят в мерную колбу на 25 мл. Данную процедуру повторяют 3 раза. Объем раствора доводят концентрированной серной кислотой до метки.

*Раствором сравнения СО олеаноловой кислоты В* является концентрированная серная кислота.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора А первые 10 мин на спектрофотометре при длине волны 308 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения А.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО олеаноловой кислоты В в первые 10 мин на спектрофотометре при длине волны 308 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения А.

Содержание суммы тритерпеноидов в пересчете на олеаноловую кислоту в сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 2}{A_0 \cdot m_x \cdot 50 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 5 \cdot (100 - W)} \cdot 100\%$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

$A_0$  – оптическая плотность раствора СО олеаноловой кислоты В;

$m_x$  – навеска сырья, г;

$m_0$  – навеска СО олеаноловой кислоты, г;

$W$  – влажность сырья, %.

При отсутствии СО олеаноловой кислоты допускается вычислять расчет содержания суммы тритерпеноидов по экспериментально установленному значению удельного показателя поглощения:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 25}{m_x \cdot 311 \cdot 5 \cdot (100 - W)}$$

где  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А;

311 – удельный показатель поглощения комплекса олеаноловой кислоты при взаимодействии с концентрированной серной кислотой при длине волны 308 нм ( $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ );

$m_x$  – точная навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Проректор по научной работе ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, лауреат премии Правительства РФ, доктор медицинских наук, профессор



И.Л. Давыдкин

« 3 » февраля 2026

Заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, доктор фармацевтических наук, профессор

В.А. Куркин

« 3 » февраля 2026

Доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, кандидат фармацевтических наук, доцент

В.М. Рыжов

« 3 » февраля 2026

Очный аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Н.П. Егоров

« 3 » февраля 2026

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**УТВЕРЖДАЮ**

И.о. генерального директора  
ФГБУ «Научный центр экспертизы  
средств медицинского применения»,  
кандидат фармацевтических наук

**В.В. КОСЕНКО**

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА  
ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО ПРЕПАРАТА**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Организация-разработчик:** федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Шалфея лекарственного листьев  
настойка

Водится впервые

*Salviae officinalis foliae tinctura*

Срок введения установлен

с «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

до «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

**Определение**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат шалфея лекарственного листьев настойка, применяемый в качестве лекарственного средства.

Для получения настойки используют:

шалфея лекарственного листа

(ФС.2.5.0051 «Шалфея лекарственного  
листа»)

– 200 г;

спирта этилового 40 % (ФС.2.1.0178

– достаточное количество

«Спирт этиловый 40 %, 70 %, 90 %»)

до получения 1000 мл.

Содержит:

- не менее 0,2 % суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид

**ОПИСАНИЕ.**

Жидкость коричневого цвета с характерным запахом, горьковато-пряным вкусом.

**ПОДЛИННОСТЬ (ИДЕНТИФИКАЦИЯ)*****Определение основных групп биологически активных веществ***

Тонкослойная хроматография. Определение проводят методом ТСХ (ОФС.1.2.1.2.0003 «Тонкослойная хроматография»).

***Рутин, лютеолин-7-глюкозида (цинарозид), розмариновая кислота.***

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ):* этилацетат – муравьиная кислота безводная – вода очищенная (14:3:3)

*Раствор стандартного образца (СО) цинарозида:* Около 0,005 г (точная навеска) СО цинарозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл 70 % спирта этилового при нагревании на водяной бане.

После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70 % спиртом этиловом до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор СО рутина:* Около 0,005 г (точная навеска) СО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл 70 % спирта этилового при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70 % спиртом этиловом до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор СО розмариновой кислоты:* Около 0,005 г СО розмариновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл 96 % спирта этилового при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 96 % спиртом этиловым до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Испытуемый раствор:* Около 1 г (точная навеска) настойки помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят спиртом этиловым 40 % до метки.

*Реактив для детектирования.* Алюминия хлорида раствор 3 % в спирте 96 % (ОФС.1.3.0001 «Реактивы. Индикаторы») и диазобензолсульфокислоты в насыщенном натрии карбонате.

На линию старта аналитической хроматографической пластинки наносят 5 мкл испытуемого раствора и рядом по 10 мкл растворы СО цинарозида, СО рутина, СО розмариновой кислоты. Пластинку с нанесёнными пробами сушат, помещают в камеру с ПФ (без предварительного насыщения) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают алюминия хлорида раствором 3% в спирте 96%. На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции с голубой флуоресценцией на уровне адсорбции СО розмариновой кислоты со значением  $R_f$  около 0,9; зона адсорбции с жёлтой флуоресценцией на уровне адсорбции СО

цинарозида со значением  $R_f$  около 0,65; зона адсорбции с жёлтой флуоресценцией на уровне адсорбции СО рутина со значением  $R_f$  около 0,45. Допускается наличие других зон адсорбции.

Далее пластинку обрабатывают раствором ДСК. При видимом свете на хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции с светло-бурой окраской на уровне адсорбции СО розмариновой кислоты со значением  $R_f$  около 0,9; зона адсорбции с жёлтой окраской на уровне адсорбции СО цинарозида со значением  $R_f$  около 0,65; зона адсорбции с жёлтой окраской на уровне адсорбции СО рутина со значением  $R_f$  около 0,45. Допускается наличие других зон адсорбции.

#### ***Карнозоловая кислота.***

*Раствор СО карнозоловой кислоты.* Около 0,001 г (точная навеска) СО карнозоловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл спирте этиловом 40 % при нагревании на водяной бане. После охлаждения в колбу добавляют 2 мл 10% раствора аммиака, после чего содержимого колбы до комнатной температуры доводят объём раствора 40 % спиртом этиловом до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Испытуемый раствор:* 1 мл настойки помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл спирте этиловом 40 %. Добавляют 2 мл 10% раствора аммиака, доводят объём раствора спиртом этиловым 40 % до метки.

На линию старта аналитической хроматографической пластинки наносят 5 мкл испытуемого раствора и рядом 10 мкл раствора СО карнозоловой кислоты. Пластинку с нанесёнными пробами сушат, помещают в камеру с ПФ (без предварительного насыщения) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, после чего просматривают в видимом свете.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться две зоны адсорбции с голубой окраской на уровнях адсорбции СО розмариновой кислоты со значениями  $R_f$  около 0,66 и 0,58. Допускается наличие других зон адсорбции.

**Спирт этиловый.** Не менее 34 %. В соответствии с требованиями ОФС.1.2.3.0034 «Определение спирта этилового в лекарственных средствах».

**Метанол и 2-пропанол.** Не более 0,05 % метанола и не более 0,05 % 2-пропанола. В соответствии с требованиями ОФС.1.2.3.0034 «Определение метанола и 2-пропанола» (контролируется в процессе технологии получения).

**Сухой остаток.** Не менее 1,4 %. В соответствии с требованиями ОФС.1.4.1.0019 «Настойки».

**Тяжелые металлы.** Не более 0,001 %. В соответствии с требованиями ОФС.1.4.1.0019 «Настойки».

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с требованиями ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота».

#### КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ.

**Сумма флавоноидов.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

**Исходный раствор.** 1 мл настойки помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят спиртом этиловым 40 % до метки.

**Испытуемый раствор А.** 2 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 2 мл алюминия хлорида раствор 3 % в спирте 96 % и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (исследуемый раствор А).

**Раствор сравнения А.** 2 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96%.

*Исходный раствор СО цинарозида.* Около 0,02 г (точная навеска) СО цинарозида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 40 мл 70 % спирта этилового при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70 % спиртом этиловым до метки.

*Раствор сравнения СО цинарозида Б.* 2 мл исходного раствора СО цинарозида помещают в мерную колбу на 25 мл, добавляют 2 мл алюминия хлорида раствор 3 % в спирте 96 % и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (раствор СО цинарозида А).

*Раствор сравнения СО цинарозида Б.* 2 мл исходного раствора СО цинарозида помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96%.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора А через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 400 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения А.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО цинарозида Б в аналогичных условиях относительно раствора сравнения СО цинарозида Б.

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на цинарозид в процентах (Х) вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 2}{A_0 \cdot V_x \cdot 100 \cdot 25 \cdot 2} = \frac{A_x \cdot m_0}{A_0 \cdot V_x \cdot 4}$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

$A_0$  – оптическая плотность раствора СО цинарозида Б;

$V_x$  – объём препарата, мл;

$m_0$  – навеска СО цинарозида, г;

Допускается содержание суммы флавоноидов в пересчёте на цинарозид вычислять с использованием удельного показателя поглощения комплекса цинарозида с алюминия хлоридом по формуле:

ФС \_\_\_\_\_ с. 7

$$X, \% = \frac{A_x \cdot 25 \cdot 25}{V_x \cdot 388 \cdot 2} = \frac{A_x \cdot 625}{V_x \cdot 776}$$

где,  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора А,

388 – удельный показатель поглощения комплекса цинарозида с алюминия хлоридом при длине волны 400 нм ( $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ );

$V_x$  – навеска препарата, г;

**Упаковка и маркировка.** В соответствии ОФС.1.1.0019 «Упаковка, маркировка и перевозка лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

**Хранение.** 2 года. В соответствии ОФС.1.1.0011 «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»

Проректор по научной работе ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, лауреат премии Правительства РФ, доктор медицинских наук, профессор



И.Л. Давыдкин

« 3 » февраля 2026

Заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, доктор фармацевтических наук, профессор

В.А. Куркин  
« 3 » февраля 2026

Доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, кандидат фармацевтических наук, доцент

В.М. Рыжов  
« 3 » февраля 2026

Очный аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Н.П. Егоров  
« 3 » февраля 2026