

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КАШФУЛЛИНА КАМИЛЛА ИЛЬДАРОВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ШАЛФЕЯ СТЕПНОГО (*SALVIA STEPPOSA* DES.-SHOST.)
ИЗ ФЛОРЫ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель
доктор фармацевтических наук,
профессор С. Р. Хасанова

УФА 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|----|
| ВВЕДЕНИЕ | 4 |
| ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ | 13 |
| 1.1. Общая ботаническая характеристика рода <i>Salvia L.</i> | 13 |
| 1.2. Морфологическая характеристика <i>Salvia stepposa</i> Des.-Shost. | 14 |
| 1.3. Ареал обитания и культивирования растений рода <i>Salvia L.</i> | 16 |
| 1.4. Современные исследования о химическом составе и фармакологической активности растений рода <i>Salvia L.</i> | 17 |
| 1.5. Стандартизация сырья растений рода <i>Salvia L.</i> в различных фармакопеях | 32 |
| ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1 | 34 |
| ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ | 35 |
| ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ | 35 |
| 2.1. Объекты исследования | 35 |
| 2.2. Методы исследования | 36 |
| 2.2.1. Определение подлинности сырья | 36 |
| 2.2.2. Методы определения товароведческих показателей | 37 |
| 2.2.3. Методы фитохимического анализа | 37 |
| 2.2.3.1. Методики качественного анализа | 37 |
| 2.2.3.2. Методики количественного анализа | 41 |
| 2.2.4. Методики определения запасов | 44 |
| 2.2.5. Методы исследования биологической активности | 44 |
| 2.2.6. Методы статистической обработки результатов исследований | 48 |
| ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ШАЛФЕЯ СТЕПНОГО (<i>SALVIA STEPPOSA</i> DES.-SHOST.) | 49 |
| 3.1. Морфологическое исследование наземной части <i>S. stepposa</i> | 49 |
| 3.2. Анатомио-диагностические исследования наземной части <i>S. stepposa</i> | 53 |
| ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3 | 61 |
| ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ШАЛФЕЯ СТЕПНОГО (<i>SALVIA STEPPOSA</i> DES.-SHOST.) | 62 |
| 4.1. Качественный анализ <i>S. stepposa</i> | 62 |
| 4.1.1. Качественные реакции | 62 |
| 4.1.2. Исследование химического состава методом тонкослойной хроматографии <i>S. stepposa</i> | 63 |
| 4.1.3. Исследование химического состава методом высокоэффективной жидкостной хроматографии | 65 |
| 4.1.4. Исследование липофильной фракции методом газовой хроматографии с совмещенной масс-спектрометрией | 67 |
| 4.2. Количественный анализ <i>S. stepposa</i> | 77 |
| 4.3. Элементный анализ <i>S. stepposa</i> | 79 |

| | |
|---|-----|
| 4.4. Сравнительный анализ <i>S. stepposa</i> и <i>S. officinalis</i> | 81 |
| ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4 | 90 |
| ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ ШАЛФЕЯ СТЕПНОГО (<i>SALVIA STEPPOSA</i> DES.-SHOST.) | 91 |
| 5.1. Разработка методики качественного анализа | 91 |
| 5.2. Разработка методики количественного анализа | 94 |
| 5.2.1. Выбор метода количественного определения | 94 |
| 5.2.2. Выбор условий экстракции | 95 |
| 5.2.3. Валидация методики количественного определения | 99 |
| 5.3. Определение числовых показателей и сроков годности | 104 |
| ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5 | 110 |
| ГЛАВА 6. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШАЛФЕЯ СТЕПНОГО (<i>SALVIA STEPPOSA</i> DES.-SHOST.) | 111 |
| 6.1. Исследование антиоксидантной активности | 111 |
| 6.2. Изучение влияния на систему гемостаза | 112 |
| 6.3. Изучение противовоспалительной активности | 113 |
| 6.4. Изучение острой токсичности | 114 |
| ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6 | 115 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ | 116 |
| ОБЩИЕ ВЫВОДЫ | 116 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ | 119 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | 120 |
| ПРИЛОЖЕНИЯ | 141 |

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

В современном мире, как в России, так и за рубежом, большое внимание уделяется исследованию лекарственного растительного сырья с антиоксидантными свойствами и препаратов на их основе. Это связано с тем, что антиоксиданты, уменьшают окислительный стресс, лежащий в основе развития большого числа хронических заболеваний – сердечно-сосудистых, эндокринных, онкологических и др. [51].

Ключевым механизмом развития окислительного стресса считается производство активных форм кислорода, однако есть и другой путь – активация воспалительных путей, так как воспаление является естественной реакцией организма в ответ на повреждение или инфекцию. После повреждения тканей происходит выделение из них тромбина, кинина и других хемоаттрактантов, а также фибриногена и компонентов комплемента. Плазменные медиаторы кининовой системы — брадикинин и калликреин усиливают проницаемость сосудов и активируют фактор Хагемана, запускающий внутренний каскад гемокоагуляции. Свертывание крови определяет тромбоз и гемостаз, а также участвует в воспалении и восстановлении поврежденных участков тела [6].

Национальный институт здоровья США (National Institutes of Health) назвал проблему воспаления одним из самых приоритетных направлений современной медицины, так как большинство заболеваний, например, сахарный диабет, острый коронарный синдром, болезнь Альцгеймера, могут быть связаны с так называемым тлеющим (smoldering) воспалением или воспалением низкой степени выраженности, которое участвует в развитии почти всех заболеваний, при которых обязательно присутствует процесс гемокоагуляции [6, 48].

Таким образом, поиск препаратов, обладающих одновременно антиоксидантными, противовоспалительными и влияющими на гемостаз свойствами, представляет актуальную задачу для современной медицины.

Возможным решением данной задачи является исследование родственных видов официальных растений, обладающих противовоспалительной активностью. Одним из примеров является род *Salvia* L. В Российскую Фармакопею на данный момент включён только шалфей лекарственный *Salvia officinalis* как сырьевой источник шалфея листьев, используемых в медицине качестве противовоспалительного и противомикробного средства. В то время, как зарубежные фармакопеи содержат также другие виды: *Salvia miltiorrhiza*, *Salvia plebeian*, *Salvia fruticosa* и др. [13, 77, 99 ,130]. На территории Российской Федерации *S.officinalis* в диком виде не произрастает, является культивируемым. Поэтому целесообразным является поиск отечественных видов данного рода для качественной замены. В Российской Федерации произрастает более 80 видов, как дикорастущих, так и культивируемых видов *Salvia* L. Расширение спектра изучаемых видов рода *Salvia* L. является перспективным направлением для обнаружения новых источников биологически активных соединений с потенциалом внедрения в клиническую практику и фармацевтическое производство. Одним из перспективных видов растений этого рода может стать шалфей степной *Salvia stepposa* Des.-Shost., который, в отличие от официального, не требует специальных условий культивирования и интродукции и произрастает в естественных условиях лесостепной и степной зонах Восточной Европы, Урала и Сибири.

Степень разработанности проблемы. Данные по фитохимическим исследованиям растений рода *Salvia* L. в научной литературе представлены довольно широко. Среди отечественных авторов, исследующих химический состав растений рода *Salvia* L., представлены работы Немерешиной О. Н. (2017), Полухиной Т. С. (2020), Рябоконт Л.П. (2020), Штульц Л.В. (2023), Феськова Е.В (2024), Ермаченкова Р.Э (2024), Куркина В.А. (2025), Нормахаматова Н.С. (2025),

среди зарубежных - работы Корчунова Н. С. (2019), Абд Рашеда А. (2021), Михайло М. (2021), Сречковича Н. (2022), Авула Б. (2022), Хафез Горан С. (2022), Ицюнь Дай (2023), Айтбекова Р. Н. (2023), Левоу Я.К. (2023) и др.

Исследование фармакологической активности растений рода *Salvia* L. представлены в работах таких отечественных авторов, как Бубенчикова В.Н. (2013), Агаджанян А. А. (2013), Кароматова И.Д (2018), Серебряная Ф.К. (2024), Рахимова И.Ф. (2024), Куркин В.А. (2025), среди зарубежных – Ллурба-Монтесино Н. (2018), Динель А.Л. (2020), Мот М.Д. (2022), Аннемер С. (2022), Джей Матер Хем Б. (2022), Хаде А.С. (2023), Ли Й. (2023), Лахлоу Й. (2023) и др.

Обзор существующих научных данных по теме работы выявил отсутствие комплексного подхода к изучению *S. stepposa*, что не позволяет объективно оценить его медицинский потенциал. Указанная научная неопределенность в сочетании с высокой практической ценностью для фармации и медицины легли в основу выбора темы и определения цели данного диссертационного исследования.

Цель и задачи. Целью диссертационной работы явилось фармакогностическое исследование шалфея степного (*Salvia stepposa* Des.-Shost.), произрастающего в Республике Башкортостан, для обоснования его использования в медицине.

Для реализации поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- Провести морфолого-анатомическое исследование *S. stepposa* и установить показатель диагностически значимых признаков.
- Провести фитохимическое исследование листьев *S. stepposa*, определить их качественный состав и количественное содержание основных групп биологически активных веществ.
- Провести сравнительный анализ качественного состава и биологических свойств листьев *S. stepposa* и листьев *S. officinalis*.
- Обосновать выбор сырья *S. stepposa* и определить оптимальный период его заготовки.

- Разработать методики стандартизации листьев *S. stepposa*.
- Установить запасы сырья *S. stepposa*.
- Изучить острую токсичность, антиоксидантные, противовоспалительные свойства и влияние на систему гемостаза листьев *S. stepposa*.
- Установить критерии подлинности и показатели качества листьев *S. stepposa* и подготовить проект фармакопейной статьи «Шалфея степного листа».

Научная новизна. Впервые проведено фармакогностическое исследование и оценка показателей качества растительного сырья *Salvia stepposa* Des.-Schost из флоры Республики Башкортостан. Исследован компонентный состав БАВ листьев *S. stepposa* с применением современных физико-химических методов – высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), газовой хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ГХ/МС), УФ-спектроскопии и идентифицировано 27 соединений. Впервые установлено присутствие в листьях *S. stepposa* методами ТСХ и ВЭЖХ гиперозида, олеаноловой кислоты; методом ГХ/МС – пальмитиновой, стеариновой и α -линоленовой кислот. В липофильной фракции цветков *S. stepposa* впервые обнаружены β -амирин, β -амирон, лупеол, эруковая кислота и γ -ситостерол. Впервые идентифицированы методом ГХ/МС в эфирном масле листьев *S. stepposa* глобулол и леодол.

Исследованы показатели накопления некоторых групп веществ – флавоноидов, дубильных веществ и аскорбиновой кислоты в листьях *S. stepposa* в образцах сырья, заготовленных в различные фазы вегетации. Установлены сроки заготовки сырья и срок годности. В исследуемом сырье *S. stepposa* определено содержание основных групп веществ – эфирного масла, флавоноидов, суммы дубильных соединений, аскорбиновой кислоты, микроэлементов.

Впервые проведен сравнительный химический и биологический скрининг листьев *S. stepposa* и листьев *S. officinalis*.

Исследованы морфолого-анатомические признаки листьев *S. stepposa* и впервые рассчитан показатель анатомических диагностически-значимых признаков (ДЗП).

Исследованы запасы *S. stepposa* в некоторых районах Республики Башкортостан и установлены их биологический, эксплуатационный запасы и возможный ежегодный объём заготовки.

Установлены острая токсичность и некоторые биологические свойства листьев *S. stepposa*: антиоксидантные, противовоспалительные и антикоагулянтные.

Разработаны показатели подлинности и качества листьев *S. stepposa* и проведена их стандартизация. Подготовлен проект ФС «Шалфея степного листа».

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработаны параметры подлинности и качества листьев *S. stepposa* для их стандартизации. Разработаны методики анализа качественного и количественного определения суммы флавоноидов, которые могут применяться в учебном процессе при освоении специальной дисциплины «Фармакогнозия» специальности Фармация, а также в работе фармацевтических предприятий и аналитических лабораторий. Данные исследования дают возможность расширения номенклатуры официального сырья за счет нового вида – листьев *S. stepposa*. Результаты фитохимических исследований подтвердили целесообразность внедрения *S. stepposa* в качестве производящего растения для разработки ФС «Шалфея степного листа». Данные исследования могут стать основой для дальнейшей разработки новых эффективных галеновых или новогаленовых растительных препаратов для нужд отечественной медицины.

Внедрение в практику. Проведенные исследования легли в основу разработанного проекта фармакопейной статьи «Шалфея степного листа» (Приложение 1).

Результаты диссертации внедрены в учебный процесс кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (Акт внедрения 06.10.2025), ООО «Урал» (Акт внедрения от 01.10.2025).

Методология и методы исследований. Методология диссертационной работы основана на поиске и анализе научных литературных источников по выбору

объектов исследования на основе перспективных растительных объектов, степени изученности их химического состава, ресурсов, возможности культивирования, перспективе использования в научной медицине; постановке цели и задач по введению в медицинскую практику нового вида лекарственного растительного сырья; целенаправленному изучению химического состава и биологических свойств; разработке НД на новый вид ЛРС; формулировке выводов, определяющих теоретическую и практическую значимость материалов диссертационной работы.

Основные методы фитохимических исследований - методы ВЭЖХ, ТСХ, ГХ/МС, УФ-спектрофотометрия, титриметрия. Анатомические исследования проводились с применением микроскопов «Минимед-501» и «Микровизор» с цифровой камерой. Изучение биологической активности проводили с использованием хемилюминесценции, методом Борна, клоттинговыми тестами, микробиологическим способом и *in vivo*.

Положения, выносимые на защиту:

- результаты морфологических и анатомических исследований листьев *S. stepposa* с расчетом показателя ДЗП;
- результаты изучения химического состава листьев *S. stepposa*;
- результаты сравнительного химического анализа и биологических свойств листьев *S. stepposa* и листьев *S. officinalis*;
- результаты по разработке методик стандартизации листьев *S. stepposa*;
- результаты по определению запасов сырья *S. stepposa*;
- результаты исследования острой токсичности и биологической активности *S. stepposa*;
- результаты по подготовке проекта ФС «Шалфея степного листа».

Степень достоверности. Степень достоверности исследований, проводимых в рамках настоящей диссертационной работы, формируется на основе размера выборки анализируемых образцов (27 образцов). Для каждого из методов исследования было применимо соответствующее количество образцов, кратность повторения эксперимента и статистические методы анализа. Для обработки данных

использовалось программное обеспечение «Statistica 10,0». По критерию Шапиро-Уилка проводили анализ на нормальность распределения, критерий Краскела-Уоллиса был выбран для проведения дисперсионного анализа. Статистически значимыми считались значения при доверительной вероятности 0,05. В пределах выборки степень достоверности различий осуществляли по t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна – Уитни. Изложенные нами выводы достаточно аргументированы и исходя из многочисленных результатов анализируемых выборок, а также фармакогностических, химических и фармакологических исследований.

Апробация результатов. Результаты, полученные в рамках данной диссертационной работы, были представлены на X-ой международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Уфа, 2023), 89-ой Всероссийской научной конференции студентов и молодых учёных с международным участием "Вопросы теоретической и практической медицины" (Уфа, 2024), I-ой Международной конференции «Инновационные лекарственные средства: от молекулы до пациента» (Москва, 2024), IV-ой международной конференции, посвященной 60-летию башкирского отделения Русского ботанического общества, 100-летию со дня рождения профессора Е.В.Кучерова (Уфа, 2024), XXVI-ом Международном съезде Фитофарм 2025, III-ей международной конференции «Интеграционные связи фармацевтической экологии – 2025» (Москва, 2025).

Связь задач исследования с проблемами фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России по проблеме «Изыскание и изучение новых лекарственных средств».

Публикации. Результаты диссертационного исследования представлены в 9 научных работах. Из них 3 статьи в отечественных изданиях, включённых в Перечень ВАК Министерства образования и науки РФ, а также 1 статья в журнале,

реферируемом в наукометрических базах данных Scopus и Web of Science. Получена справка на приоритет изобретения РФ (№2025129219).

Личный вклад автора. Автор самостоятельно определил научные направления и задачи исследования. Автор лично спланировал и выполнил экспериментальные исследования. Все результаты автором получены лично. В работах, выполненных в соавторстве, автор лично проводил научное обоснование, подготовку проб, расчет данных и интерпретацию полученных результаты. Доля автора в сборе, анализе и обобщении результатов является определяющей.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация соответствует паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия п. 2 «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств»; п. 3 «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства, потребления»; 5 пункту «Изучение вопросов рационального использования ресурсов лекарственного растительного сырья с учетом влияния различных факторов на накопление биологически активных веществ в сырье» и 6 пункту «Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе».

Работа представляет итог исследований, выполненный автором в творческом сотрудничестве с кафедрами фармакогнозии и ботаники, фармакологии, а также лабораторией хроматографических и спектральных методов исследований ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 154 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, 4 экспериментальных глав, общих выводов,

списка литературы и приложений. В работе содержатся 62 таблицы и 57 рисунков. Список цитируемой литературы включает 161 библиографический источник, из которых 103 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Общая ботаническая характеристика рода *Salvia L.*

«Зачем человеку умирать, когда в его саду растёт шалфей?» – гласит древнее арабское изречение, отражающее представление о целительных свойствах этого растения.

Растения рода *Salvia L.* издавна считались способствующими долголетию и укреплению здоровья, *S. officinalis* даже называли «травой бессмертия». Название рода *Salvia* произошло от латинского слова *salvus* – здоровый, спасающий, излечивающий [34, 60, 100, 62].

В разных культурах растения рода *Salvia L.* считались символом мудрости, молодости и долголетия. Они применялись для повышения плодovitости женщин ещё в Древнем Египте. По этой причине напиток из шалфея был чрезвычайно популярен у молодых женщин. Также считалось достаточным лишь посадить это растение у себя в саду, чтобы продлить жизнь [7]

Название "шалфей" в английском языке, "sage", является омонимом слова "мудрец", что подчёркивает его связь с ясностью мышления.

В традиционной и современной медицине препараты на основе различных видов *Salvia L.* применяются как успокаивающее, кровоостанавливающее, антисептическое, противовоспалительное, дезинфицирующее, смягчающее, спазмолитическое, отхаркивающее и ранозаживляющее средство. Они способствуют снижению лактации у кормящих женщин, усиливают секреторную функцию желудочно-кишечного тракта, уменьшают газообразование, обладают гипогликемическим и гипохолестеринемическим действием, а также стимулируют выделение желудочного сока. Наружно их используют для предотвращения выпадения волос. Кроме того, их часто применяют в терапии бесплодия. Препараты на основе *S. officinalis* обладают высокой антимикробной активностью против стафилококков, стрептококков и других грамположительных

микроорганизмов, что обуславливает их эффективность при лечении гнойных ран, язв и воспалений кожи. Настой *S.officinalis* укрепляет нервную систему, улучшает обмен веществ, нормализует половую функцию и уменьшает дрожание рук. Его успешно применяют при параличах, нарушениях памяти, профилактике Альцгеймера, а также как общеукрепляющее и сосудорасширяющее средство. Кроме того, настой *S.officinalis* эффективен для полоскания при воспалениях полости рта и горла, ангинах, катарах дыхательных путей, простуде, кашле, бронхиальной астме, туберкулёзе лёгких, кровохарканье и приступах удушья. [1, 58, 92, 111, 114, 72, 138]

Шалфей (*Salvia* L.) – род семейства Яснотковые (*Lamiaceae*). Растения рода *Salvia* L. представляют собой многолетние травы, полукустарники и кустарники. Род включает более 1000 видов. Это травы и полукустарники с мощным корнем и многочисленными стеблями. Листья – простые. Чашечка - колокольчатая, трубчато-колокольчатая, коническая или трубчатая, во время плодоношения не изменяющаяся или немного увеличивающаяся; верхняя губа трёхзубчатая. Венчик всегда двугубый ассиметричный; верхняя губа шлемовидная, серповидная или прямая; средняя лопасть нижней губы значительно крупнее боковых, очень редко равна боковым. Тычинок две; столбик нитевидный; рыльце двулопастное. Тычинки сложного строения: длинный связник подвижно или неподвижно соединяет пыльцевое гнездо с тычиночной нитью, его заднее плечо, восходящее под верхней губой венчика, несет фертильное гнездо пыльника, переднее обычно стерильно или с рудиментом второго гнезда пыльника. Орешки яйцевидные, округлые или иногда почти трёхгранные, гладкие. Стебель четырёхгранный опушенный [38].

1.2. Морфологическая характеристика *Salvia stepposa* Des.-Shost.

S.stepposa - многолетнее растение высотой 25–50 см. Стебли одиночные или чаще по несколько, снизу негусто одеты короткими волосками, выше с более густым опушением с примесью более длинных, утолщенных при основании, часто вниз направленных волосков, в соцветии с густой примесью очень

короткостебельчатых железок; прикорневые листья не опадающие во время цветения (лишь на среднеазиатских растениях мелкие и увядающие до цветения), продолговато яйцевидные, 2,5-8,0 см в длину, 1,5-5,5 см в ширину, заостренные, сердцевидные, по краю двояко крупнозубчатые или городчатые, немного морщинистые, голые или снизу, преимущественно по жилкам негусто и коротко опушенные, длинночерешковые, с черешками длиннее пластинки; нижние стеблевые мало отличающиеся от прикорневых, лишь несколько меньших размеров, верхние стеблевые сидячие, значительно мельче; прицветные при основании ветвей широко ланцетно-яйцевидные, длинно оттянутые к верхушке, сидячие, стеблеобъемлющие; прицветные ложных мутовок яйцевидные, длинно оттянутые на верхушке с коротким острием, снизу и особенно по краям опушенные длинными, тонкими, многоклеточными волосками, смешанными с короткими утолщенными при основании волосками и длинностебельчатыми железками, короче чашечки или немного длиннее. Соцветие короче стебля, простое или с одной парой ветвей при основании, с отстоящими друг от друга 4—6-цветковыми ложными мутовками; цветки обоеполые или смешанные с женскими или все цветки на растении женские; чашечка колокольчатая, 5—7 мм в длину, опушенная длинными тонкими волосками и длинностебельчатыми железками, часто фиолетово-окрашенная; верхняя губа полуокруглая, с очень короткими сближенными зубцами, нижняя двузубчатая с более глубокими и длиннее заостренными зубцами; венчик фиолетово-синий, 15—20 мм в длину, трубка венчика с короткой толстой полоской чешуевидных волосков, верхняя губа серповидная, на верхушке выемчатая, по спинке короткостебельчато железисто опушенная, нижняя с продолговатыми, длинными, торчащими боковыми лопастями и широкой, глубоко вогнутой, выемчатой средней, снизу опушенной длинными спутанными волосками и усеяна, как и верхняя, сидячими железками; тыч. не превышают венчика, бесплодные гнезда пыльников с выдающимися почти округлыми верхними углами, с короткими отростками над ними; задние пыльники

в виде коротких стаминодиев; орешки 1,5 мм в длину, эллиптические, темнобурые, с плохо выраженными более темными полосками. (рис.1.2.1.) [56].

Растения *S. stepposa* имеют хорошо развитую стержневую корневую систему. «Главный корень в диаметре 0,5 см, проникает на глубину 28-33 см, утолщенные боковые корни увеличиваются в диаметре до 0,3-0,4 см, корни III-IV порядков значительно тоньше, более короткие» [11].



Рисунок 1.2.1. Шалфей степной (*Salvia stepposa* Des.-Shost.)

1.3. Ареал обитания и культивирования видов рода *Salvia* L.

Ареал обитания и культивирования видов рода *Salvia* L. включает следующие регионы:

1. Естественный ареал:

- Средиземноморье: страны Южной Европы, такие как Италия, Греция, Испания, Франция.
- Северную Африку: Марокко, Алжир.
- Юго-западную Азию: Турцию, Иран.

2. Культивирование:

- Широко культивируется в странах с умеренным климатом по всему миру.

- В России и странах СНГ его выращивают, в основном, в южных регионах, таких как Краснодарский край, Кавказ.

- В Европе выращивается в огородах и специальных плантациях по всему континенту.

- В США и Канаде культивируется на фермах и в садах для получения лекарственного сырья и пряности.

Растения рода *Salvia* L. предпочитают солнечные участки с хорошо дренированной почвой. Этот род устойчив к засухе и морозам, что позволяет выращивать его в различных климатических условиях.

В Российской Федерации в естественных условиях произрастает около 80 видов рода *Salvia* L., в том числе на территории Республики Башкортостан 5 видов: *S. glutinosa*, *S. verticillata*, *S. nutans*, *S. tesquicola* Klok. et Pobed, *S. stepposa* Des.-Shost.

Salvia stepposa Des.-Shost. довольно широко встречается в естественных условиях лесостепной и степной зоны Урала, Западной Сибири, Средней Азии, Восточной Европы, на остепненных лугах и берегах рек [34]. Несмотря на отсутствие статуса официального растения, *S. stepposa* часто применяется в медицине народов Башкортостана, Казахстана и Хакасии для лечения и в комплексной терапии заболеваний верхних дыхательных путей, при воспалении мочевого пузыря, гастрите, спазмах желудка и кишечника, воспалениях полости рта [37, 42].

1.4. Современные исследования о химическом составе и фармакологической активности растений рода *Salvia* L.

Химический состав рода *Salvia* L. довольно обширен, включает себя ряд таких соединений, как углеводы, жирные кислоты, гликозидные производные, фенольные соединения, стероидные терпеноиды и др. [3, 55, 23, 17, 28, 47, 43, 61, 87, 144, 104, 160, 148, 150, 60, 118, 121, 127, 103, 105, 147, 149, 159, 102, 110]. Необходимо подчеркнуть, что химический состав растения рода *Salvia* L. широко

варьируется в зависимости от вида, условий произрастания и стадии развития растения.

Обширный состав биологически активных веществ рода *Salvia* L. представлен эфирными маслами, флавоноидами, танинами и другими соединениями, обладающими широким спектром фармакологически значимых эффектов [87, 144, 104, 160, 148, 150, 121, 127, 103, 105, 147, 149, 159, 102, 110].

Современные исследования о химическом составе растений рода *Salvia* L. показывают его богатство биологически активных веществ и широкий спектр потенциальных лечебных свойств.

Флавоноиды

Флавоноиды растений рода *Salvia* L. такие, как апигенин, лютеолин, цинарозид, кверцетин, гесперидин, рутин являются ценной группой биологически активных веществ. Именно эта группа соединений предположительно оказывает ведущее влияние на систему гемостаза [2].

Дубильные вещества

Растения рода *Salvia* L. богаты дубильными веществами, представляющих собой группу сложных полифенольных веществ [43].

Фенолкарбоновые кислоты

В различных видах растений *Salvia* L. были идентифицированы розмариновая кислота, кофейная кислота и ее производные: коричная, п-кумаровая, розмариновая, хлорогеновая, неохлорогеновая, синаповая, феруловая и др. [22, 78, 112, 101, 136].

Терпены

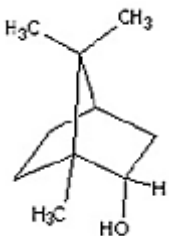
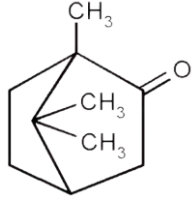
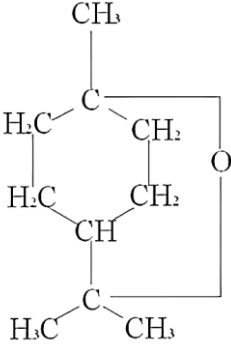
Ответственными за фармакологическое действие растений рода *Salvia* L., как правило, являются вещества, входящие в состав эфирного масла, а именно, моно- и сесквитерпены, сложные эфиры, ароматические соединения. Состав эфирного масла может варьироваться в зависимости от экологических и генетических факторов, но чаще всего среди терпеновых соединений в растениях этого рода

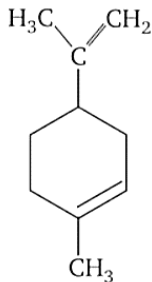
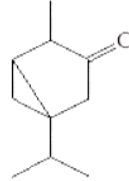
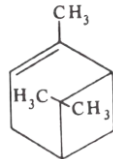
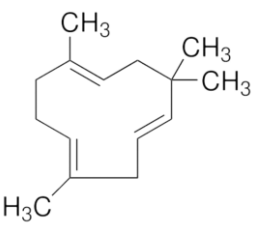
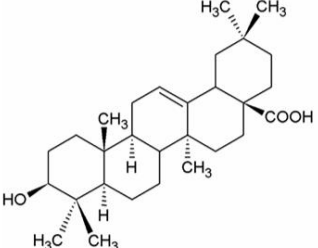
встречаются α -туйон, β -туйон, α -пинен, β -пинен, камфора, лимонен, цинеол, α -гумулен, борнеол и др. [5, 17].

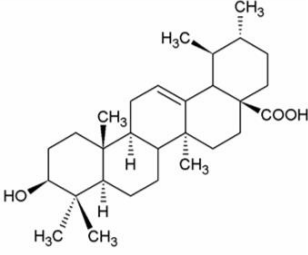
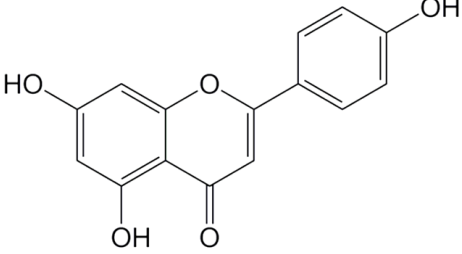
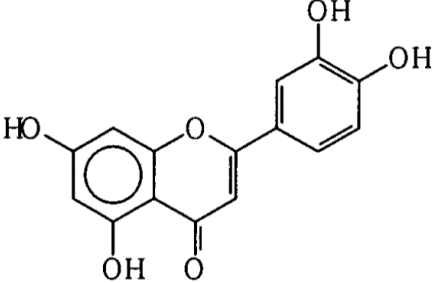
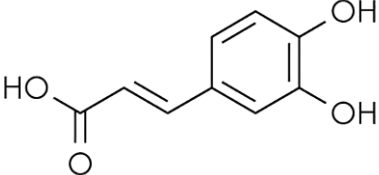
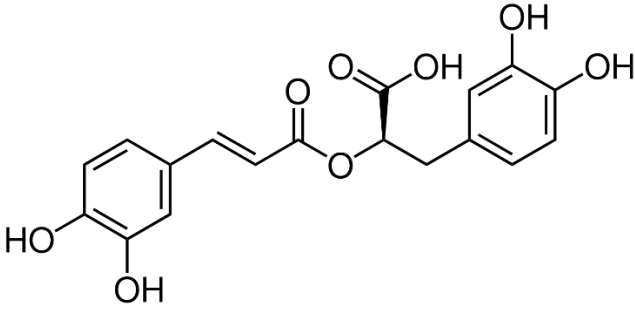
Химический состав некоторых растений рода Salvia L.

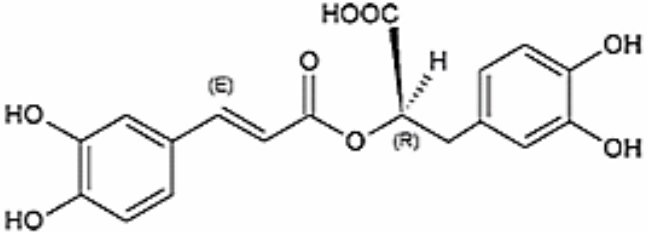
1. *S.officinalis* – наиболее полно и всесторонне изученный вид данного рода. Содержит в себе витамины, фитонциды, эфирные масла, алкалоиды, флавоноиды, органические кислоты, смолистые и дубильные вещества и природные антиоксиданты (таблица 1.4.1) [35]. Только в эфирном масле листьев данного вида выделено более 120 компонентов [18, 33].

Таблица 1.4.1 – некоторые компоненты *S.officinalis*

| Вещество | Структурная формула |
|------------|--|
| Терпены | |
| Борнеол |  |
| Камфора |  |
| 1,8-цинеол |  |

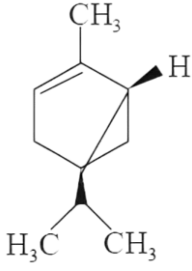
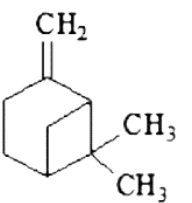
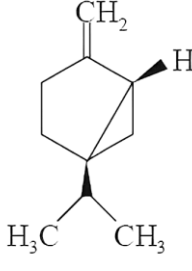
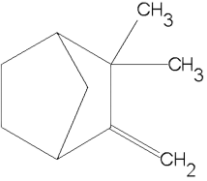
| | |
|--------------------------|--|
| Лимонен |  |
| α-туйон |  |
| α-пинен |  |
| α-гумулен |  |
| Тритерпеновые соединения | |
| Олеаноловая кислота |  |

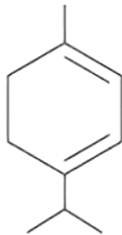
| | |
|--------------------------|--|
| Урсоловая кислота |  |
| Флавоноиды | |
| Апигенин |  |
| Лютеолин |  |
| Фенольные кислоты | |
| Кофейная кислота |  |
| Хлорогеновая кислота |  |

| | |
|----------------------|---|
| Розмариновая кислота |  <p>The structure shows a central propionic acid chain. The carboxylic acid group (HOOC) is at the top. The alpha carbon is bonded to a hydrogen atom (H) with a dashed bond and a chiral center (R). The beta carbon is bonded to a hydrogen atom (H) with a wedged bond and a chiral center (E). The gamma carbon is bonded to a 3,4-dihydroxyphenyl group.</p> |
|----------------------|---|

2. *S. fructicosa* входит в Британскую фармакопею. Химический состав очень схож с *S. officinalis*, но имеются некоторые различия (таблица 1.4.2) [154].

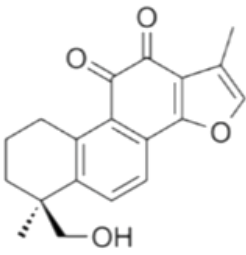
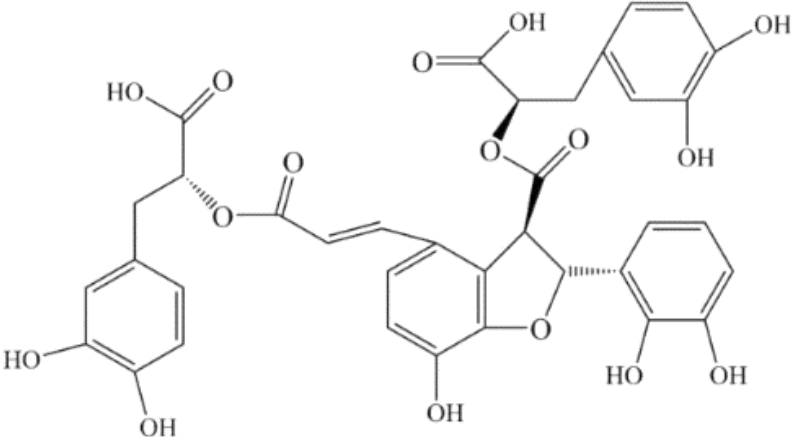
Таблица 1.4.2 – некоторые компоненты, характерные для *S. fructicosa*

| Вещество | Структурная формула |
|----------|---|
| Терпены | |
| α-туйен |  <p>The structure is a bicyclic monoterpene with a six-membered ring fused to a four-membered ring. It features a methyl group (CH₃) at the top, a hydrogen atom (H) on a wedge, and two methyl groups (H₃C and CH₃) at the bottom.</p> |
| β-пинен |  <p>The structure is a bicyclic monoterpene with a six-membered ring fused to a four-membered ring. It features a methylene group (CH₂) at the top and two methyl groups (CH₃ and CH₃) at the bottom.</p> |
| Сабинен |  <p>The structure is a bicyclic monoterpene with a six-membered ring fused to a four-membered ring. It features a methylene group (CH₂) at the top, a hydrogen atom (H) on a wedge, and two methyl groups (H₃C and CH₃) at the bottom.</p> |
| Камфен |  <p>The structure is a bicyclic monoterpene with a six-membered ring fused to a four-membered ring. It features a methyl group (CH₃) at the top, another methyl group (CH₃) on the right, and a methylene group (CH₂) at the bottom.</p> |

| | |
|------------|--|
| α-терпинен |  |
|------------|--|

3. *S. miltiorrhiza* также известный как даншен - красный шалфей, корни которого используются в традиционной китайской медицине [130]. Его основными действующими компонентами являются рутин, изокверцитрин, астрагалин, урсоловая и олеаноловая кислоты, кофейная и розмариновая кислоты, полисахариды и др. Однако, наиболее значимыми соединениями, обуславливающими терапевтическую ценность растения, являются салвианоловая кислота В и таншинон ПВ (таблица 1.4.3).

Таблица 1.4.3 – Важнейшие компоненты *S. miltiorrhiza*

| Вещество | Структурная формула |
|-------------------------|--|
| Таншинон ПВ |  |
| Салвианоловая кислота В |  |

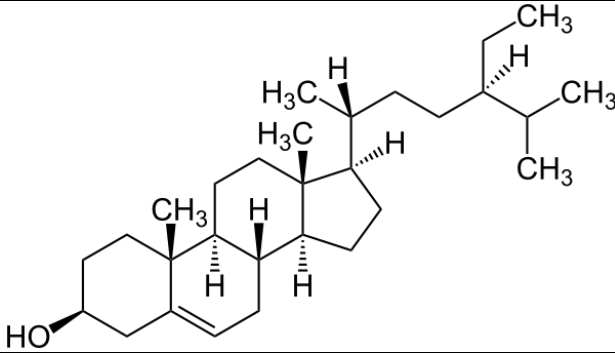
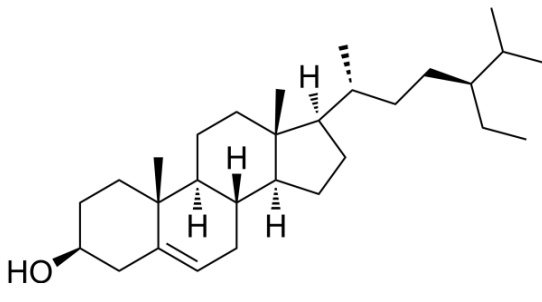
4. *S. stepposa* - согласно существующим исследованиям, в состав *S. stepposa* входят такие группы веществ, как флавоноиды, эфирные масла, полисахариды, антрацены, сапонины и дубильные вещества [5, 8, 15, 18, 20, 23, 34, 47, 37, 44].

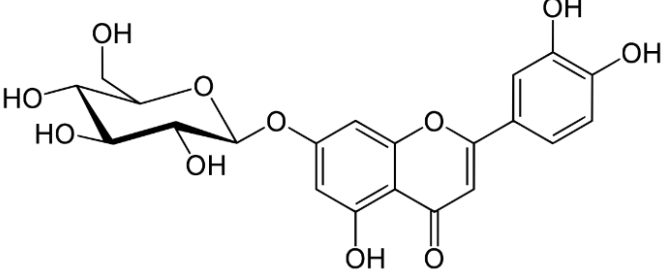
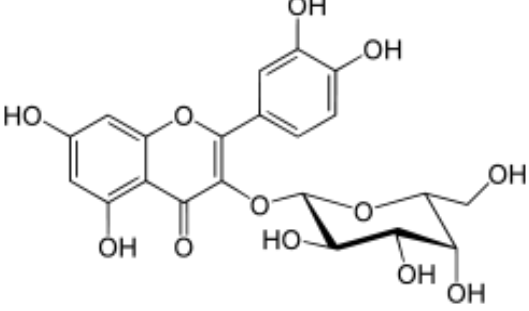
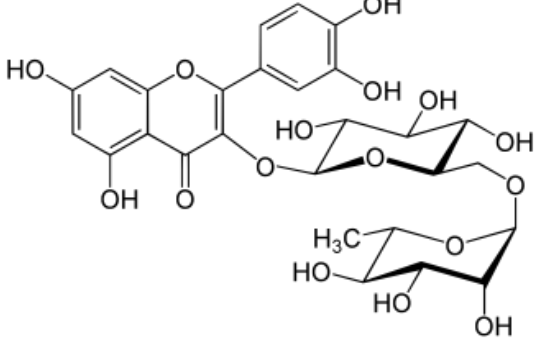
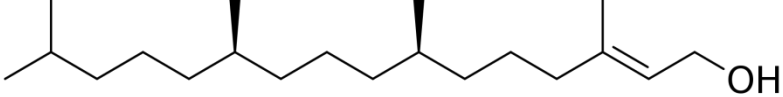
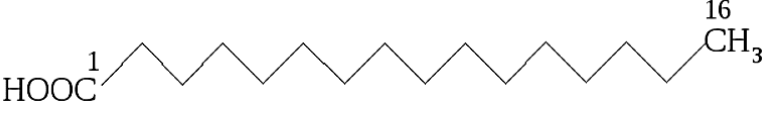

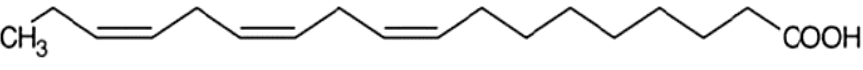
Различные исследования методом газовой хроматографии с тандемной масс-спектрометрией показали наличие в экстрактах *S. stepposa* таких веществ, как α -пинен, камфен, β -пинен, о-цимен, τ -терпинен, туйол, камфора, β -хамигрен [74, 127, 105].

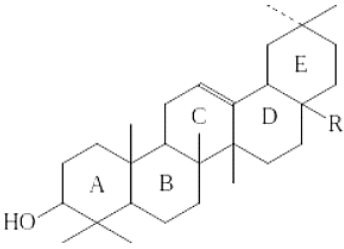
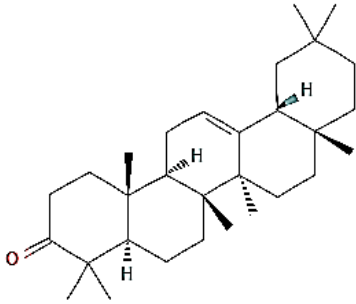
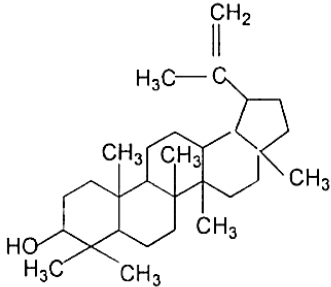
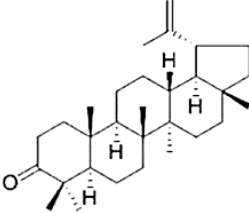
Исследования методом ТСХ показало наличие в сырье *S. stepposa* таких флавоноидов, как цинарозид, лутеолин, рутин и фенолкарбоновых кислот - хлорогеновая кислота, нехлорогеновая кислота, кофейная кислота, феруловая кислота [37, 43, 42].

В таблице 1.4.4. представлены структуры индивидуальных соединений, содержащихся в *S. stepposa*, согласно существующим исследованиям [26, 23, 34, 47, 43, 42, 44, 60, 127].

Таблица 1.4.4 – Некоторые соединения, характерные для *S. stepposa*

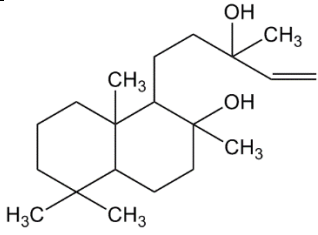
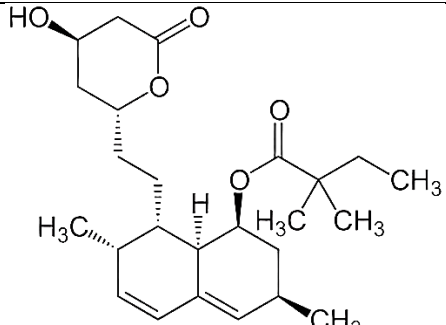
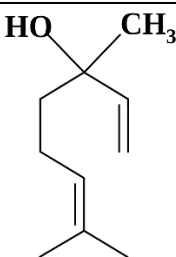
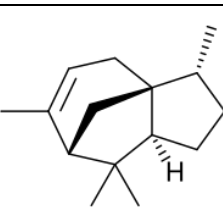
| Вещество | Структурная формула |
|-----------------------|--|
| Стерины | |
| β - ситостерол |  |
| γ - ситостерол |  |
| Флавоноиды | |

| | |
|--|--|
| <p>Лютеолин-7- глюкозид (Цинарозид)</p> |  |
| <p>Гиперозид</p> |  |
| <p>Рутин</p> |  |
| <p>Дитерпены</p> | |
| <p>Фитол</p> |  |
| <p>Другие соединения</p> | |
| <p>Пальмитиновая кислота</p> |  |
| <p>Стеариновая кислота</p> |  |
| <p>α-линоленовая кислота</p> |  |
| <p>β-амирин</p> | |

| | |
|----------|--|
| |  |
| β-амирон |  |
| Лулеол |  |
| Люпенон |  |

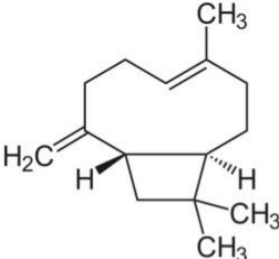
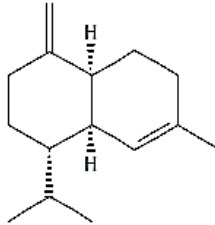
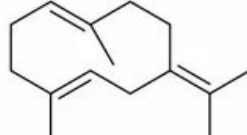
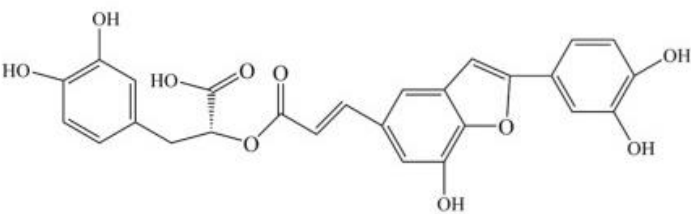
5. *S. sclarea* – в России в диком виде встречается на территории Северного Кавказа, обладает наибольшей эфиромасличностью в роде *Salvia* L. [52]. Важнейшими компонентами являются дитерпеновый спирт склареол, а также линалилацетат, линалоол, линалилформинат, цедрен, гермакрен, геранилацетат, α-терпинеол, кариофиллен, муравьиная кислота и др. (таблица 1.4.5) [52].

Таблица 1.4.5 – Некоторые соединения, характерные для *S. sclarea*

| Вещество | Структурная формула |
|-------------------|--|
| Дитерпены | |
| Сclareол |  |
| Терпеноиды | |
| Линалилацетат |  |
| Линалоол |  |
| Терпены | |
| Цедрен |  |

6. *S.verticillata* - встречается в европейской части Российской Федерации, на Кавказе и в Западной Сибири. Основными группами вторичных метаболитов *S.verticillata* являются фенольные соединения, такие как фенольные кислоты и флавоноиды, и терпены - монотерпены и дитерпены. Основными компонентами эфирного масла *S.verticillata* являются β -кариофиллен, γ -мууролен, лимонен, α -гумулен, гермакрен В, а также сальвианоловые кислоты В и С (таблица 1.4.6) [127, 145].

Таблица 1.4.6 – Некоторые соединения, характерные для *S.verticillata*

| Вещество | Структурная формула |
|----------------------------|--|
| Сесквитерпены | |
| β-кариофиллен |  |
| γ-мууролен |  |
| гермакрен В |  |
| Другие соединения | |
| Салвианоловая кислота С |  |

Фармакологическая активность

Флавоноиды растений рода *Salvia* L. такие, как апигенин, лютеолин, кверцетин, гесперидин, являются ценной группой биологически активных веществ, благодаря их антиоксидантной и противовоспалительной активности, а также способности подавлять агрегацию тромбоцитов, воздействуя на разные звенья сигнального каскада свёртывания крови [71, 72, 103, 138, 141, 143, 144, 161].

Фенолкарбоновые кислоты обладают антимикробным, фунгистатическим, желчегонным и мощным антиоксидантным действием [72, 82, 107, 120, 122, 124,

141]. Розмариновая кислота проявляет противоопухолевую, антирадикальную, антимикробную, иммуномодулирующую активность, а также имеет перспективы использования в отношении болезни Альцгеймера [49, 94].

Также растения рода *Salvia* L. богаты дубильными веществами. Данная группа БАВ обуславливает в растениях антимикробные, противовирусные, противогрибковые, противовоспалительные, антиоксидантные и ранозаживляющие свойства [66, 125, 152].

Фармакологическая активность некоторых растений рода Salvia L.

S.officinalis – именно это растение в древности называлось «травой бессмертия», ибо терапевтические возможности данного вида чрезвычайно обширны. В различных исследованиях экстракты *S.officinalis* показывают антиоксидантную, противовоспалительную, гиполлипидемическую, гипогликемическую, нейропротективную, антимикробную, антидиабетическую активность [72, 92, 111, 113, 115, 117, 143, 151].

Появляется все больше исследований, что *S.officinalis* обладает свойствами, улучшающими когнитивные способности. В исследованиях экстракты *S.officinalis* демонстрировали свойства предотвращать нарушения в обучении и памяти, вызванные диабетом, у крыс [108].

Современные исследования также содержат информацию о противораковых и антимуtagenных свойствах чайных напитков на основе листьев *S.officinalis*, что может предотвращать начальные стадии канцерогенеза толстой кишки [86]. Экстракты из него также оказывают антипролиферативное действие на клеточные линии рака молочной железы (MCF-7), аденокарциномы шейки матки (HeLa), колоректального рака (HCT116, HCT15, CO115, HT29), инсулиномы (RINm5F), карциномы гортани (Hep-2), карциномы легких (A549), меланомы (A375, M14, A2058, B16), а также оказывают ингибирующее действие на раковые клетки плоскоклеточного рака полости рта [63, 73, 79, 90, 128, 133, 142]. Данный вид также обладает антиноцицептивными и противодементными свойствами [106].

В некоторых исследованиях выявлено положительное воздействие *S.officinalis* на гликемический статус и содержание липидов. Исследования показывают, что различные экстракты надземных частей *S. officinalis* способны снижать уровень глюкозы при диабете. Предполагаемые механизмы гипогликемического действия *S. officinalis* включают ингибирование глюконеогенеза гепатоцитов и снижение резистентности к инсулину [76, 132].

Также у экстракта *S.officinalis* выявлена способность активировать бензодиазепиновые рецепторы, проявляя противосудорожные эффекты [89].

S.verticillata согласно существующим исследованиям, обладает значительным потенциалом для создания новых фитофармацевтических препаратов. Так, за счет содержания в экстрактах *S.verticillata* сальвианоловой кислоты В, он обладает потенциалом для улучшения фиброза печени, кардио- и гепатопротекции, а также ингибирования инфекции SARS-CoV-2. Одним из основных соединений в эфирном масле *S.verticillata* является агонист каннабиноидных рецепторов 2-го типа β -кариофиллен. Он обладает большим потенциалом для использования в регенеративной медицине, неврологии, иммунологии. Исследования *S.verticillata*, проведенные *in vivo* и *in vitro*, также показали хороший антиоксидантный потенциал, противовоспалительную, антибактериальную и противогрибковую активность. *S.verticillata* может рассматриваться как перспективный источник лекарственных препаратов для лечения нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, из-за ингибирующей активности ацетилхолинэстеразы [115, 145, 146, 157].

S.sclarea в многочисленных исследованиях показывает антибактериальную активность, в особенности, в отношении грамположительных бактерий, антиоксидантную, желчегонную и анальгезирующую активность. Этанольные экстракты *S.sclarea* демонстрируют противовоспалительные эффекты при пародонтите у крыс, вызванных липополисахаридом [68]. Экстракты этого растения способны подавлять рост некоторых фитопатогенных грибов [3, 14, 28, 72, 104, 137]. Эфирные масла *S.sclarea* обладают выраженным анксиолитическим

эффектом [83]. Экстракты *S.sclarea*, полученные методами ультразвуковой экстракции, продемонстрировали в исследованиях нейропротективную активность, эффективно ингибируя апоптоз в клеточной модели болезни Паркинсона [123].

S. miltiorrhiza или даншен ценится в традиционной медицине Китая [130]. Основными группами, отвечающими за лечебные свойства этого вида, являются гидрофильные фенольные кислоты и липофильные таншиноны. Обе группы веществ обладают множественной биологической активностью, например, антиоксидантным, антиагрегантным, противовоспалительным действием и др. Недавние исследования показали, что данные вещества также обладают мощной противораковой активностью как *in vitro*, так и *in vivo* [153]. Помимо этого экстракты корней *S. miltiorrhiza* проявляют кардиопротекторную и гепатопротекторную активность [129]. Элексиры и таблетки на основе экстрактов *S. miltiorrhiza* применяются для лечения и профилактики ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда, стенокардии, кардиосклерозе, гипертонической болезни и сердечной недостаточности.

Потенциал *S. stepposa* в качестве лекарственного растения пока что остаётся не до конца раскрытым, тем не менее, проведённые исследования показывают его перспективность [23, 24, 26, 34, 37, 42, 43, 44, 47, 49, 60, 100, 127]. В зарубежных исследованиях имеются сведения, что экстракты *S. stepposa* обладают выраженными антиоксидантными свойствами, обусловленными содержанием фенольных соединений, таких как феруловая кислота, кофейная кислота, а также флавоноидов. Эти компоненты способны нейтрализовать свободные радикалы, снижают окислительный стресс, что важно при профилактике хронических заболеваний, связанных с окислительным повреждением клеток [37, 60, 62, 100]. Экстракты и отдельные компоненты *S. stepposa* проявляют противовоспалительные свойства. Механизм действия связан с ингибированием продукции воспалительных цитокинов и медиаторов, таких как простагландины и интерлейкины. Исследования на моделях *in vitro* показывают эффективность снижения уровня воспалительной реакции, что делает данный вид перспективным

для использования в лечении воспалительных болезней [119]. Эфирные масла *S. stepposa* способны к подавлению роста патогенных микроорганизмов [37]. Основные фармакологические эффекты *S. stepposa* связаны с богатым содержанием антиоксидантных веществ и фитостеринов [23, 24, 26, 60, 100, 127].

S. stepposa используется в народной медицине некоторых народов мира при заболеваниях верхних дыхательных путей, воспалении мочевого пузыря и десен, а также для лечения некоторых гастроэнтерологических заболеваний [23]. На данный момент *S. stepposa* используется в традиционной медицине, а также в ландшафтном дизайне благодаря своей декоративности и устойчивости к неблагоприятным условиям [44].

1.5. Стандартизация сырья растений рода *Salvia L.* в различных фармакопеях

Представители рода *Salvia L.* включены в фармакопеи многих стран мира в качестве вяжущего, дезинфицирующего и противовоспалительного средства. В зарубежные фармакопеи включены такие виды шалфея, как *S. miltiorrhiza*, *S. sclarea*, *S. fructicosa* [77, 99, 130]. В Государственную фармакопею Российской Федерации входит *S. officinalis*, лекарственным растительным сырьем которого являются листья [13].

Стандартизация сырья растений рода *Salvia L.* в различных фармакопеях включает установление требований к его внешнему виду, органолептическим характеристикам, химическому составу и содержанию активных веществ (таблица 1.5.1).

Таблица 1.5.1 - Стандартизация сырья некоторых видов рода *Salvia L.*
в различных фармакопеях

| Вид (сырьё) | НД | Качественный анализ | | Количественный анализ | | |
|--------------------------------|----|---------------------|----------|-----------------------|---------------|---------------------------|
| | | Метод | Вещество | Метод | Показатели | Количественное содержание |
| <i>S. officinalis</i> (листья) | | ТСХ | Цинеол | Метод 1 или 2 | эфирное масло | не менее 0,8% |

| | | | | | | |
|--|---------------------------------|-----|---|-------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| | | | | ОФС.1.5.3.0 010.15 | | |
| | ГФ Российской Федерации XV [13] | | | Метод 1 ОФС.1.5.3.0 008.18 | дубильные вещества | не менее 4,5% |
| | | | | Метод 1 ОФС.1.5.3.0 006.15 | экстрактивные вещества | не менее 30% |
| <i>S. officinalis</i> (листья) | ГФ Республики Беларусь [12] | ТСХ | α -туйон β -туйон цинеол | Метод А (метод Кле- венджера) | эфирное масло | не менее 15 мл/кг |
| <i>S. officinalis</i> (листья) | Европейская фармакопея [99] | ТСХ | α -туйон β -туйон цинеол | Метод А (метод Кле- венджера) | эфирное масло | не менее 15 мл/кг |
| <i>S. officinalis</i> (листья) | Британская фармакопея [77] | ТСХ | α -туйон β -туйон цинеол | Метод А (метод Кле- венджера) | эфирное масло | не менее 15 мл/кг |
| <i>S. fruticosos</i> (листья) | Британская фармакопея [77] | ТСХ | туйон цинеол | Метод А (метод Кле- венджера) | эфирное масло | не менее 15 мл/кг |
| <i>S. miltiorrhiza</i> (корневище с корнями) | Китайская фармакопея [130] | ТСХ | сальвиано- ноловая кислота В | ВЭЖХ | сальвиано- ловая кислота В | не менее 3% |
| | | | таншинон II | | Метод хо- лодной ма- церации | экстрактив- ные веще- ства |
| | | | | | | не менее 35% |

Во всех фармакопеях подчеркивается важность стандартизации содержания активных веществ — главным образом, эфирного масла. Обязательным является контроль за чистотой сырья, отсутствием посторонних примесей, загрязнений пестицидами и тяжелыми металлами. Для обеспечения качества используют методы органолептического анализа, тонкослойную, газовую, жидкостную хроматографию.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. Анализируя полученные данные научных информационных ресурсов, можно утверждать, что различные виды рода *Salvia* L. служат объектами как химических, так и биологических исследований.
2. Проведённый обзор литературных источников указывает на отсутствие полноты и целостности представленной информации о химическом составе *S. stepposa*, а индивидуальные компоненты и экстракты из *S. stepposa* обладают не только биологической активностью, но и большим терапевтическим потенциалом, что в свою очередь доказывает актуальность и перспективы для направленных фармакогностических исследований.
3. Богатый опыт долгосрочных исследований и практического использования родственных видов *S. stepposa* как в России, так и за рубежом формирует основу для его более глубокого изучения как источника биологически активных веществ, а также рассмотрения *S. stepposa* в качестве перспективного вида для включения в официальную номенклатуру лекарственных растений.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Объекты исследования – наземная часть *Salvia stepposa* Des.-Schost (шалфей степной) из флоры Республики Башкортостан, заготовленная с произрастающих в естественных условиях растений *S.stepposa* в различные фазы вегетации: в фазе бутонизации, цветения и плодоношения в июне-августе 2022-2024 гг.

Растительное сырье собирали вручную и высушивали с использованием воздушно-теневого сушки (рисунок 2.1.1, 2.1.2, 2.1.3), далее сырье упаковывалось в бумажные пакеты и хранилось при температуре не выше 25⁰С и при влажности не выше 50%.



Рисунок 2.1.1 – Листья *S.stepposa*
высушенные



Рисунок 2.1.2 – Цветки *S.stepposa*
высушенные



Рисунок 2.1.3 – Травя *S. stepposa* высушенная

Для исследования химического состава наземной части *S. stepposa* методами ТСХ, ВЭЖХ и ГХ-МС использовались экстракты, полученные с использованием этилового спирта, метилового спирта и петролейного эфира.

Для исследования антиоксидантной, противовоспалительной, антиагрегационной и антикоагулянтной активности, а также для оценки острой токсичности использовали настой листьев *S. stepposa*.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Определение подлинности сырья

Макроскопический анализ сырья *S. stepposa* выполнялся с визуальным наблюдением и с использованием увеличительного стекла при изучении компонентов аналитического образца (10х).

Микроскопический анализ был проведен в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РФ XV издания [13].

Микроскопические характеристики объектов исследования иллюстрированы на изображениях, полученных с использованием микровизуального устройств «Минимед-501» и МВЗ-103.

В результате микроскопического анализа осуществлена стандартизация лекарственного растительного сырья путем определения и количественной оценки диагностически важных признаков [13].

Для проведения анализа использовали порошок листьев и травы, пропущенный через сито с диаметром отверстий 0,5 мм. Наблюдение осуществлялось под микроскопом «М - 501" с увеличением $4 \times 0,10 \times 37,5$; $10 \times 0,25 \times 7,63$; $40 \times 0,65 \times 0,63$. Исследование включало ($n = 15$) вычисление сумм диагностически значимых признаков, суммы диагностически незначимых частиц и общей суммы частиц (полученной сложением двух предыдущих показателей). Анализ образцов выполнялся согласно методике, разработанной И. А. Самылиной и О. Г. Потаниной. [46].

2.2.2. Методы определения товароведческих показателей

Определение числовых показателей (влажность, зола общая, зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты, измельченность и примеси) проводили по ГФ РФ XV издания.

Определение сроков годности течение 2022-2025 гг. проводили согласно ОФС.1.1.0009 [13].

2.2.3. Методы фитохимического анализа

2.2.3.1. Методики качественного анализа

Качественные реакции

В рамках качественного анализа проводились следующие химические реакции (таблица 2.2.3.1) [17]:

Таблица 2.2.3.1 – Методика качественного анализа *S.stepposa*

| Группа БАВ | Реактив |
|----------------------|--|
| Флавоноиды | а) 5% раствор ацетата свинца |
| | б) 5% спиртовой раствор $AlCl_3$ |
| Аскорбиновая кислота | 0,02% 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия |

| | |
|----------------------|----------------------------------|
| Дубильные вещества | раствор железоаммониевых квасцов |
| Полисахариды | спирт 95% |
| Сапонины | NaOH 0,1н HCl 0,1н |
| Кумарины | Лактонная проба |
| Фенольные соединения | FeCl ₃ |

Тонкослойная хроматография

Для хроматографического исследования в качестве экстрагента использовали этиловый спирт концентрации - 60% (глава 5.1). Для получения извлечения сырье и экстрагент брали в соотношении 1:10. 0,02 мл извлечения и по 0,02 мл 0,05% растворов СО наносили с использованием капилляра на линию старта пластинки Sorbfil ПТСХ-АФ-А 100x150 мм в различных системах растворителей. Хроматографические камеры предварительно насыщали системами растворителей не менее одного часа.

Для хроматографии в тонком слое сорбента применяли следующие системы растворителей:

- этилацетат – муравьиная кислота – вода (15:3:4),
- этанол – хлороформ (4,8:12),
- этилацетат – ЛУК – вода (15:2:2),
- бутанол – ЛУК – вода (21:7:7),
- этилацетат – метанол – вода – муравьиная кислота (12,5:0,5:0,75:1,5),
- хлороформ – ЛУК – метанол – вода (7,5:4:1,5:1),
- ЛУК – муравьиная кислота – вода (10:2:3)
- хлороформ – ацетон – вода (36:1:1)

Для идентификации обнаруженных веществ на хроматограмме были использованы следующие стандартные образцы веществ (таблица 2.2.3.2):

Таблица 2.2.3.2 – Стандартные образцы веществ

| Вещество | Производитель |
|----------------------|--|
| гиперозид | TRC, степень чистоты – 95% (Канада) |
| рутин | Сигмабиосинтез, степень чистоты – 95% (Россия) |
| лютеолин-7-гликозид | Сигмабиосинтез, степень чистоты – 95% (Россия) |
| апигенин | Сигмабиосинтез, степень чистоты – 95% (Россия) |
| кверцетин | TRC, степень чистоты – 95% (Канада) |
| витексин | TRC, степень чистоты – 95% (Канада) |
| лютеолин | Сигмабиосинтез, степень чистоты – 95% (Россия) |
| хлорогеновая кислота | TRC, степень чистоты – 95% (Канада) |
| кофейная кислота | TRC, степень чистоты – 95% (Канада) |

Способ хроматографирования - восходящий. По достижении растворителя уровня 10 см, пластинка извлекалась из камеры и высушивалась в естественных условиях. Просмотр полученной хроматограммы проводился в УФ-свете при 365 нм.

Далее хроматограмму обрабатывали 1% спиртовым раствором алюминия хлорида и наблюдали изменение или усиление окраски полученных зон.

Высокоэффективная жидкостная хроматография

Анализ проводили на градиентном жидкостном хроматографе «Милихром А-02» со спектрофотометрическим детектором и колонкой с обращенной фазой. Условия хроматографирования приведены в таблице 2.2.3.3. УФ-детектирование осуществлялось одновременно при 8 длинах волн (210, 220, 230, 240, 250, 260, 280, 300 нм) при этом каждому определяемому веществу соответствовало 8 пиков с одинаковым временем удерживания, но с разными амплитудами, прямо пропорциональными экстинкции вещества. При совпадении параметров

удерживания для компонента смеси и известного вещества осуществлялась идентификация компонента. Идентификация пиков на хроматограмме исследуемого образца осуществляется путем сравнения их времен удерживания и спектральных характеристик в области УФ-спектра с параметрами, заранее полученными для стандартных веществ [30].

Таблица 2.2.3.3 – Условия хроматографирования

| | |
|-------------------------------|--|
| Спектральный диапазон | 190-360 нм |
| Объем ячейки | 1,2 мкл |
| Дрейф | < 0,00005 е.о.п./час при 250 нм |
| Колонка | ∅ – 2*75мм из нержавеющей стали No.4024, «ProntoSil-120-5 c18AQ #4024», dp = 5 мкм |
| Термостат | твердотельный электрический |
| Устанавливаемая температура | 40 ⁰ С |
| Погрешность термостатирования | ± 0,3 ⁰ С. |
| Насос | двухшприцевой, градиентный. |
| Скорость подачи | от 5 до 1000 мкл/мин |
| Автодозатор | автоматический, программируемый |
| Количество пробирок | 46 |
| Количество анализов в серии | от 1 до 200 |
| Дозируемый объем | от 1 до 99 мкл |
| Элюент А | 0,1% ТФА в воде очищенной для жидкостной хроматографии |
| Элюент Б | 0,1% ТФА в ацетонитриле |
| Режим элюирования | градиентный |
| Буфер | 2 мкл |
| Максимальное давление | 1,7 МПА |

Газовая хроматография с тандемной масс-спектрометрией

Из сырья получали липофильные фракции путем однократной мацерации. 1,0 г сырья (точная навеска), измельченных в ступке с пестиком до размера частиц, проходящих через сито с диаметром отверстия 2 мм экстрагировали методом мацерации петролейным эфиром (ЭКОС-1, ТУ 2631-074-44493179-01) в соотношении 1:10 в течение недели при температуре не выше 25 °С в защищенном от света месте.

С помощью метода ГХ-МС на газовом хроматографе Agilent 8890 GC System с масс-селективным детектором Agilent Technologies 5977В исследовали метаболомный профиль полученных извлечений *S.stepposa*. Условия хроматографирования представлены в таблице 2.2.3.3.

Таблица 2.2.3.3 – Условия хроматографирования

| | |
|---|--|
| Колонка | капиллярная HP- 5MS 30 м × 0.25 мм × 0.25 мм (сорбент полидиметилсилоксан) |
| Скорость газа (гелий) | 1 мл/мин |
| Градиент температур | 80 °С – 2 мин, затем скорость нагрева составляла – 5°/мин до 290 °С |
| Время выдержки при исходной температуре | 2 мин |
| Время выдержки при конечной температуре | 10 мин |
| Температура инжектора | 240°С |
| Объем вводимой пробы | 5 мкл |
| Масс-селективный детектор использовался в режиме электронного удара | 70эВ |
| Регистрация масс-спектров | по ионному току в режиме сканирования |

Анализ обнаруженных метаболитов проводили, сравнивая с масс-спектрами стандартных образцов встроенной библиотеки данных с коэффициентом подобия библиотечным спектрам не менее 90 %.

2.2.3.2 Методики количественного анализа

Определение суммы флавоноидов

Определение суммы флавоноидов проводили по специально разработанной методике для листьев *S.stepposa*.

1.0 г (точная навеска) сырья, измельченного до 2 мм, помещали в колбу на 250 мл, прибавляли 200 мл 60 % этилового спирта, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане 30 минут. Затем извлечение

фильтровали и доводили в мерной колбе до 200 мл этиловым спиртом концентрации 60% (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 2 мл раствора А, прибавляли 5 мл 1% спиртового раствора хлорида алюминия, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты и доводили раствор до метки 60% этиловым спиртом (раствор В). Оптическую плотность полученного раствора измеряли через 30 минут на спектрофотометре при длине волны 394 нм в кювете толщиной слоя 1 см. Раствором сравнения служил следующий раствор: 2 мл раствора А, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты и доведённый 60% этиловым спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Раствор СО лютеолин-7-гликозида готовили по схеме: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца лютеолин-7-глюкозида, предварительно высушенного при температуре 130-140°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

Содержание суммы флавоноидов (X) в пересчете на лютеолин-7-глюкозид и абсолютно сухое сырье (в %) вычисляли по формуле 2.2.3.2.1:

$$X = \frac{A \cdot 200 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 0,05 \cdot 1}{A_0 \cdot m \cdot 2 \cdot (100 - W) \cdot 100 \cdot 25}, \quad (2.2.3.2.1)$$

где

A – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

A₀ – оптическая плотность раствора Б СО лютеолин-7-глюкозида;

m – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид также можно вычислить с использованием удельного показателя поглощения комплекса лютеолин-7-глюкозид с алюминия хлоридом по формуле 2.2.3.2.2:

$$X = \frac{A \cdot 200 \cdot 100 \cdot 25}{E \cdot m \cdot 2 \cdot (100 - W)}, \quad (2.2.3.2.2)$$

где

A – оптическая плотность исследуемого раствора (раствор В);

E – удельный показатель поглощения лютеолин-7-глюкозид с хлоридом алюминия, равный 400;

m – навеска сырья, г;

W – потеря в массе сырья при высушивании, %.

Определение содержания аскорбиновой кислоты

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях *S. stepposa* осуществляли методом йодометрического титрования (прямое титрование) [13]. Около 0,2 мл водного извлечения листьев *S. stepposa* растворяли в 20 мл воды и проводили титрование 0,05 М раствором йода до появления синей окраски (индикатор – 2 мл 1% раствора крахмала). 1 мл 0,05 М раствора йода соответствует 88,06 мг аскорбиновой кислоты. Содержание аскорбиновой кислоты в лекарственном растительном сырье/препарате вычисляли по формуле 2.2.3.2.3:

$$C\% = \frac{1 \cdot 88,06 \cdot V_t \cdot 100}{a \cdot 10 \cdot (100 - W)}, \quad (2.2.3.2.3)$$

где

a – навеска сырья, г;

V_t – объем титранта, мл;

W – влажность сырья, %

Определение содержания дубильных веществ

Содержание дубильных веществ проводили по ГФ РФ XV издания (ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»), используя метод 1 в пересчете на танин [13].

Определение содержания эфирного масла

Количественное определение эфирного масла проводили согласно общей фармакопейной методике ОФС.1.5.3.0010 «Определение содержания эфирного

масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» (метод 1) [13].

Определение содержания экстрактивных веществ

Количественное определение экстрактивных веществ проводилось согласно ОФС.1.5.3.0006 [13]. В качестве экстрагента предлагается использовать этиловый спирт в концентрации 60%, так как при данных условиях наблюдается максимальных выход биологически активных соединений.

Определение содержания микроэлементов

Содержание микроэлементов определяли при помощи атомно-абсорбционного спектрометра «Квант-2А» согласно НД ГОСТ 30692-2000; ГОСТ 32343-2013.

2.2.4. Методика определения запасов

Для определения урожайности использовали метод модельных экземпляров (метод 2) [48]. Определяли биологический, эксплуатационный запасы и возможный ежегодный объем заготовок [48].

2.2.5. Методы исследования биологической активности

Определение антиагрегационной и антикоагулянтной активности

Для оценки фармакологической активности исследуемые настои вносили в плазму крови из расчета 5% от объема реакционной смеси [41]. Эксперименты осуществлялись в условиях *in vitro* (таблица 2.2.5.1, 2.2.5.2).

Таблица 2.2.5.1 – Условия проведения исследования антиагрегационной активности настоев *S. stepposa*

| Параметр | Описание |
|---------------------------|--|
| Объект исследования | Кровь здоровых доноров-мужчин |
| Метод забора крови | Из кубитальной вены с использованием вакуумной системы |
| Система вакуумного забора | BD Vacutainer (Becton Dickinson and Company, США) |

| | |
|---|--|
| Стабилизатор венозной крови | 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1 |
| Метод исследования | Метод Born |
| Оборудование | Агрегометр «АТ-02» (НПФ «Медтех», Россия) |
| Индуктора агрегации | Аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл - Коллаген в концентрации 5 мг/мл (Технология-Стандарт, Россия) |
| Параметры оценки агрегации тромбоцитов | Максимальная амплитуда агрегации - Скорость агрегации - Время достижения максимальной амплитуды - Деагрегация |
| Параметры при коллаген-индуцированной агрегации | Латентный период активации фосфолипазы С (образование вторичных посредников, секреция тромбоцитарных гранул, синтез тромбосана А2) |

Воздействие настоев *S. stepposa* на процесс агрегации эритроцитов оценивалось по влиянию на латентный период, максимальную амплитуду агрегации, скорость агрегации и время достижения максимальной амплитуды.

Антикоагулянтная активность оценивалась по влиянию на различные показатели свертываемости крови (табл. 2.2.5.2.).

Таблица 2.2.5.2 – Условия проведения исследования антикоагулянтной активности водных настоев *S. stepposa*

| Параметр | Характеристика |
|------------------------------|--|
| Метод определения активности | Общепризнанные клоттинговые тесты на оптическом двухканальном автоматизированном анализаторе свертываемости крови АСКа 2-01-"Астра" (НПЦ «Астра»), Россия) |
| Основные показатели | Активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ) |
| | Протромбиновое время (ПВ) |
| | Концентрация фибриногена (по А. Clauss) |

Препараты сравнения:

- 2-ацетилоксибензойная кислота («Ацетилсалициловая кислота», Фармацевтическая фабрика Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко., ЛТД, Китай),
- «Гепарин натрия» (ОАО «Синтез», Россия).

Антиагрегационная активность препарата сравнения (ацетилсалициловой кислоты) представлена для концентрации 1×10^{-3} М/л, антикоагулянтная активность препарата сравнения (гепарина натрия) - для концентрации 5×10^{-4} г/мл.

Наборы реагентов, используемые для работы на этапе *in vitro*:

1. Наборы коагуляционных тестов производства “Технология-Стандарт” (г. Барнаул):

- Тех-АПТВ-Е1-тест, - Тех-Фибриноген-тест, - Техпластин-тест (R).

2. Индукторы агрегации тромбоцитов производства “Технология-Стандарт” (г. Барнаул):

- АДФ, - Коллаген.

Оценка антиоксидантной активности

Антиоксидантную активность определяли *in vitro* методом хемилюминесценции (ХЛ) [45]. В качестве препарата сравнения использовали 0,05% раствор аскорбиновой кислоты («Аскорбиновая кислота», ОАО «Дальхимфарм», 680001, Российская Федерация, Хабаровский край, г. Хабаровск, ул. Ташкентская)

Исследуемые настои в объемах 0,1 и 0,5 мл добавляли в различные модельные системы, предназначенные для генерации активных форм кислорода (АФК) и индукции реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ), представляющих собой ключевые пути свободно-радикального окисления.

В качестве первой модельной системы использовали 20 мл фосфатного буфера с добавлением цитрата натрия и люминола (рН=7,5). В качестве инициатора окисления добавляли 1 мл 50 мМ раствора железа (II) сульфата. Окисление солей железа ведет к появлению кислородных радикалов и сопровождается хемилюминесценцией, усиливающейся в присутствии люминола. Регистрацию свечения проводили в течение 3 минут.

Для оценки действия препаратов на ПОЛ их добавляли к липидам, полученным из куриного желтка, содержащего липопротеиновые комплексы, сходные с липидами крови [29].

ХЛ также инициировалась добавлением 1 мл 50 мМ раствора сернокислого железа (II) при постоянном перемешивании, что приводило к окислению

ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов. По интенсивности ХЛ судили о процессах ПОЛ.

В качестве контроля использовали модельные системы без добавления исследуемого сырья. Регистрацию свечения проводили на приборе «ХЛМ-003». Антиокислительную активность оценивали по уменьшению интенсивности свечения.

Оценка острой токсичности

Токсикологические исследования проводили на 120 белых мышах-самцах и 60 самках в возрасте 2 месяцев со средней массой тела 20-21 г при внутрижелудочном введении [16]. Условия содержания животных, длительность наблюдения и число животных в экспериментальной группе на каждую дозу определялось указаниями, изложенными в требованиях к испытаниям на безопасность новых медицинских продуктов, действующих в пределах Европейского экономического сообщества (1981), согласно требованиям системы оценки общетоксического действия фармакологических средств и методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических средств (2012).

Настой листьев *S. stepposa* (1:10) вводили внутрижелудочно в дозах 1000, 3000 и 5000 мг/кг. После однократного введения настоя, мышей помещали в индивидуальные прозрачные боксы с многочисленными круглыми отверстиями. В первые сутки, после введения, животные находились под постоянным наблюдением. Через сутки, после введения тестируемого вещества, животных пересаживали в клетки со свободным доступом к поилкам и корму. Общая длительность наблюдения за животными при изучении острой токсичности составляла 14 суток.

Оценка противовоспалительной активности

Острую воспалительную реакцию (отек) воспроизводили субплантарным (под подошвенный или плантарный апоневроз) введением 0,1 мл 2% раствора формалина мышам самцам [98]. Настой листьев *S. stepposa* вводили предварительно

принудительно перорально ежедневно на протяжении недели. Отек лапы определяли по разнице диаметра лапы (миллиметры), измеренного штангенциркулем, через 4 и 24 часа после индукции воспаления относительно диаметра лапы до индукции воспаления. Препарат сравнения (диклофенак натрия (ООО «Гротекс», Россия) вводили за 1 час до моделирования отека в дозировке 10 мг/кг внутривнутрибрюшинно. Противовоспалительный эффект оценивали по уменьшению отека лапы у крыс на фоне изучаемых лекарственных сборов относительно показателя контрольной группы.

2.2.6. Методы статистической обработки результатов исследований

Статистическая обработка результатов исследования производилась с применением программ Excel 2019, Statistica 10.0 (StatSoft Inc, США) согласно ГФ РФ XV издания. Разницу между подгруппами признавалась статистически значимой при доверительной вероятности 0,05. Достоверность различий между выборками определяли по t-критерию Стьюдента. U-тест Манна-Уитни использовался для отрицания «нулевой» гипотезы. Различия между анализируемыми группами считались статистически значимыми при $P < 0,05$. Нормальность распределения фактических данных проводилась при помощи критерия Шапиро-Уилка. Дисперсионный анализ проводили с помощью критерия Краскела-Уоллиса [41].

ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *S.STEPPOSA*

3.1. Морфологическое исследование наземной части *S.stepposa*

Макроскопический и микроскопический анализ проводился методами, описанными в главе 2, п.2.2.1. Определение видовой принадлежности проводилось с использованием определителя растений флоры Башкортостана [38]. Исследование признаков растения и микроскопический анализ различных частей растения - листьев, стеблей, цветков и чашелистиков – проводились согласно главе 2, п.2.2.1. Определение морфологических признаков *S.stepposa* проводили с помощью измерительной линейки, изучали невооруженным взглядом, а также при помощи бинокулярного микроскопа с увеличением 10х. Результаты морфологического анализа *S.stepposa* представлены в таблице 3.1.1.

Таблица 3.1.1. – Макроскопический анализ наземной части *S.stepposa*

| Сырье | Морфологические признаки |
|--------------|---|
| Стебель | Прямостоячий, четырехгранный, опушенный (рисунок 3.1.2), средняя длина 27-33 см (рисунок 3.1.1), диаметром 1-4 мм. |
| Листья | Листья простые, цельные с острой верхушкой и сердцевидным основанием и сетчатым жилкованием. Листорасположение супротивное. Листья - зеленые с верхней стороны, с нижней - светло-зеленые. С нижней стороны выделяется светло-жёлтая почти белая выпуклая жилка листа (рисунок 3.1.8). Верхние листья – продолговато-ланцетовидные, сидячие, в длину около 1,0 - 1,5 см и в ширину около 0,5 - 1,0 см. Листья, расположенные ниже, черешковые - примерно 8,0 – 9,0 см в длину и 5,0 -6,0 см в ширину. Нижние листья также черешковые длиной 7-8 см, шириной 3-3,5 см продолговато-яйцевидные, с |

| | |
|---------------|--|
| | <p>сердцевидным основанием, по краю городчатые, сверху с единичными волосками по жилкам, снизу волосистые, длинночерешковые. Жилкование перисто-краевое. Волоски располагаются по всей поверхности с обеих сторон листа и по краю. Прицветные листья зеленые, продолговатые, округлые, с заостренной верхушкой, с умеренно-городчатым краем, коротко опушенные (рисунок 3.1.7).</p> <p>Запах - при растирании листа характерный.</p> |
| Черешок листа | <p>Ребристый, опушённый. Нет цельной стенки, вместо этого черешок листа как бы «свёрнут» в трубочку (рисунок 3.1.3). Диаметр 0,1 см. Длина черешков верхних листьев - 0,7 - 1,2 см, средних листьев - 2,2 – 4,0 см, нижних листьев – 3,0 -7,0 см.</p> |
| Цветки | <p>Чашелистики зелёные, состоящие из четырех лепестков, длина лепестков 0,7 - 0,8 см, ширина 0,1 - 0,3 см.</p> <p>Чашечка колокольчатая, железисто-опушенная (рисунок 3.1.5). Цветки по 4-8 цветков в мутовках, образующих колосовидное соцветие. Венчик сине-фиолетовый (рисунок 3.1.4), снаружи волосистый, двугубый; верхняя губа серповидная, изогнутая, длиннее нижней. Тычинки выходят из венчика в виде усиков. Плод - ценобий, состоящий из 4 долей (рисунок 3.1.6).</p> |



Рисунок 3.1.1. – Наземная часть растения *S. stepposa*

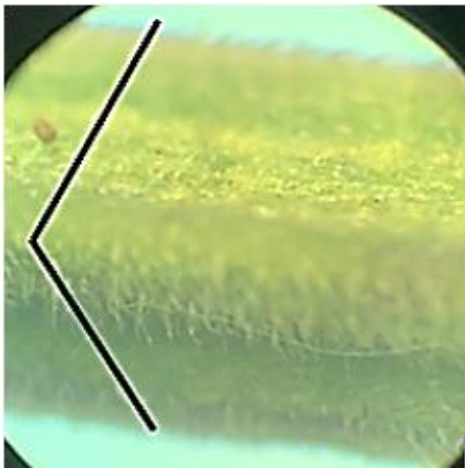


Рисунок 3.1.2 – Четырехгранный стебель *S. stepposa* (линиями показаны грани)



Рисунок 3.1.3 – Черешок листьев *S. stepposa*, «свёрнут» в трубочку



Рисунок 3.1.4 – Венчик *S. stepposa*



Рисунок 3.1.5 – Железисто-опушенный чашелистик *S. stepposa*

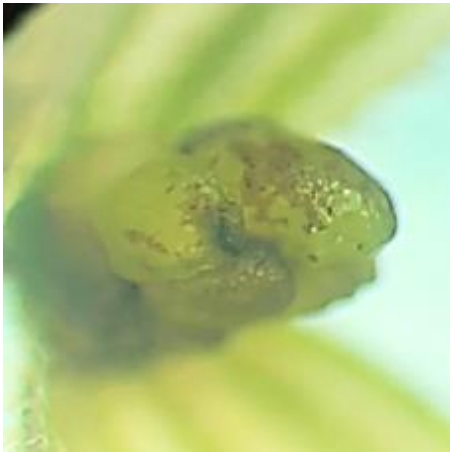


Рисунок 3.1.6 – Плод - ценобий *S. stepposa*



Рисунок 3.1.7 – Прицветные листья *S. stepposa*



Рисунок 3.1.8 – Верхняя и нижняя сторона листа *S. stepposa*

3.2. Анатомио-диагностическое исследование наземной части *S.stepposa*

Анатомические признаки были изучены с использованием микроскопа при увеличении окуляра 15х и объективов 10х и 40х. Микропрепараты готовили из просветленных и размягченных частей растения (таблица 3.2.1).

Таблица 3.2.1 – Микроскопический анализ *S.stepposa*

| Сырье | Анатомо-диагностические признаки |
|---------|--|
| Стебель | При исследовании поперечного среза стебля видна покровная ткань – эпидермис, на поверхности которого расположены простые волоски одно- и многоклеточные, под ним расположена колленхима, ксилема, флоэма (рисунок 3.2.20, 3.2.21, 3.2.22). Видны коллатеральные пучки открытого типа, в основном располагающиеся в углах стебля. |
| Листья | Клетки эпидермиса изодиаметрической или продолговатой формы с извилистыми стенками. Устьица окружены двумя околоустьичными клетками, смежные стенки которых располагаются перпендикулярно устьичной щели (диацитный тип) (рисунок 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3), встречаются на обеих сторонах листа. По краю листа встречаются простые одноклеточные и многоклеточные волоски (рисунок 3.2.4, 3.2.5, 3.2.6). На поверхности встречаются эфиромасличные железки типа губоцветных (рисунок 3.2.8, 3.2.9), состоящие из восьми выделительных клеток, и несколько типов волосков: простые одноклеточные, простые многоклеточные, головчатые на одноклеточной ножке с одноклеточной головкой и головчатые на многоклеточной ножке с одноклеточной головкой (рисунок 3.2.7). |

| | |
|---------------|---|
| | |
| Черешок листа | <p>Эпидермис черешка листа состоит из прямоугольных клеток, покрыт простыми одноклеточными и многоклеточными волосками, головчатыми одноклеточными и многоклеточными волосками и эфиромасличными железками. На поперечном срезе под эпидермисом располагается колленхима, флоэма и ксилема, видны 4 закрытых коллатеральных пучка (рисунок 3.2.10, 3.2.11, 3.2.12). Строение средней, базальной и апикальной части поперечного среза черешка не отличается друг от друга. Форма черешка крылато-желобчатая.</p> |
| Цветки | <p>Эпидермис чашелистиков состоит из вытянутых клеток с извилистыми стенками. Поверхность чашелистиков усеяна простыми многоклеточными, головчатыми волосками и также встречаются многочисленные эфиромасличные железки (рисунок 3.2.13, 3.2.14, 3.2.15, 3.2.16). Эпидермис венчика состоит из округлых слабоизвилистых клеток. Венчик покрыт эфиромасличными железками, простыми и головчатыми многоклеточными волосками (рисунок 3.2.17, 3.2.18, 3.2.19).</p> |

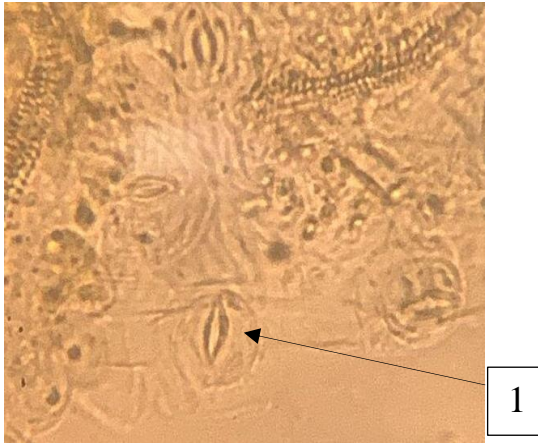


Рисунок 3.2.1 – Верхняя сторона листа с устьичным аппаратом диацитного типа овальной формы. Увел. 15x40



Рисунок 3.2.2 – Нижняя сторона листа со множеством устьиц, и простых одноклеточных волосков. Увел. 15x40

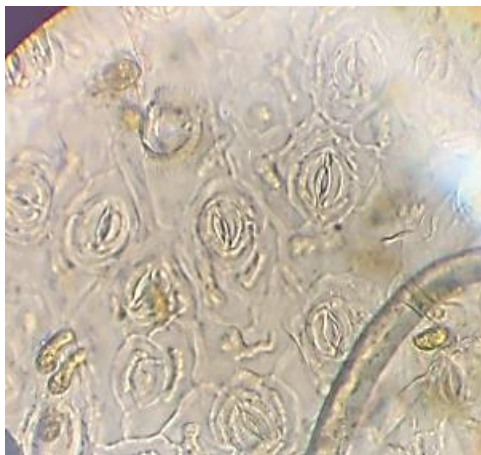


Рисунок 3.2.3 – Нижняя сторона листа с многочисленными устьицами.
Увел. 15x40

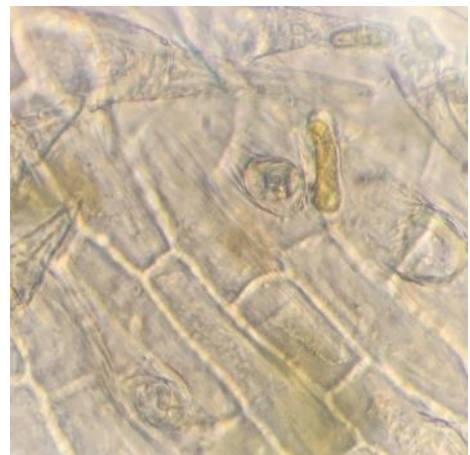


Рисунок 3.2.4 – Прямоугольные клетки эпидермиса листа с простыми волосками. Увел. 15x40

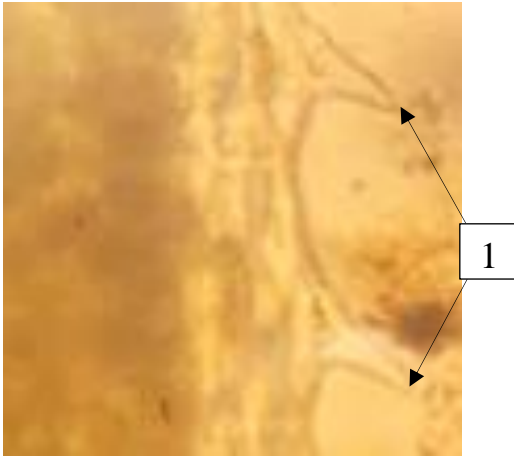


Рисунок 3.2.5 – Простые
одноклеточные волоски по краю листа.
Увел.15x10 (1 – простые волоски)

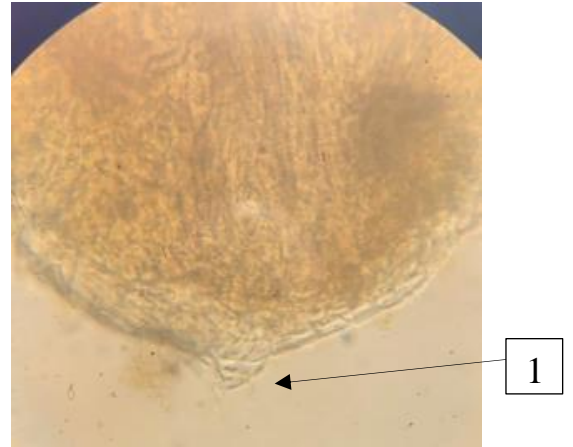


Рисунок 3.2.6 – Верхушка листа.
Увел.15x10 (1 – простой волосок на
верхушке листа)

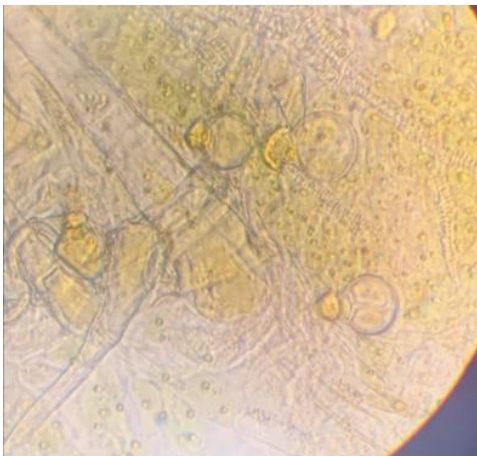


Рисунок 3.2.7 – Головчатые волоски на
нижней поверхности листа. Увел.15x40

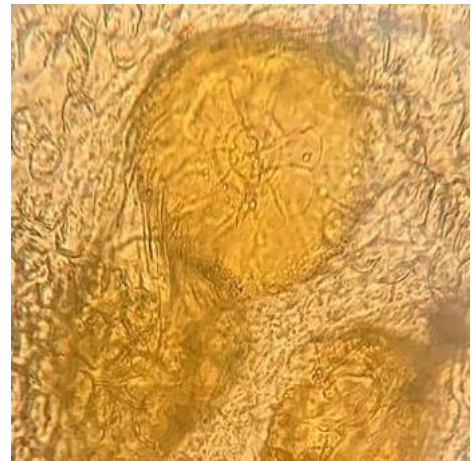


Рисунок 3.2.8 – Эфиромасличная
железка на поверхности листа.
Увел.15x40

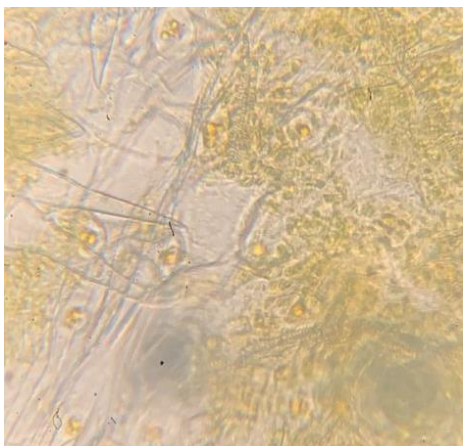


Рисунок 3.2.9 – Эпидермис листа с эфиромасличными железами.

Увел.15x40



Рисунок 3.2.10 – Поперечный срез черешка листа (1-эпидермис, 2-закрытые коллатеральные пучки, 3-колленхима, 4-флоэма, 5-ксилема).

Увел.15x10



Рисунок 3.2.11 – Волоски на поверхности черешка листа (1-простой волосок, 2-головчатый волосок, 3-коллатеральный пучок). Увел.15x10

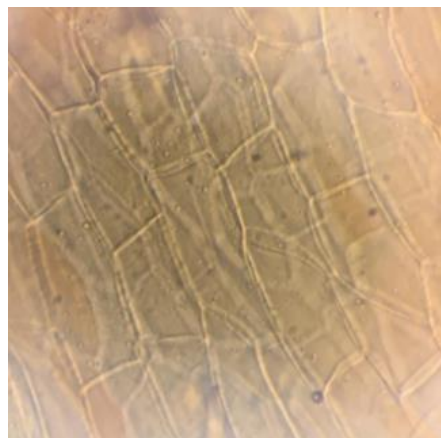


Рисунок 3.2.12 – Прямоугольные клетки эпидермиса черешка листа.

Увел.15x40

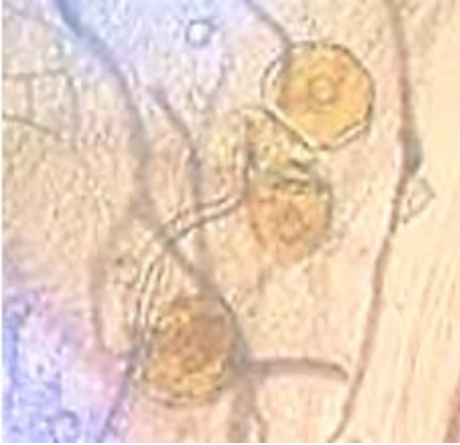


Рисунок 3.2.13 –
Эфиромасличные железки на
поверхности чашелистика
Увел.15x40



Рисунок 3.2.14 – Простые
многоклеточные волоски на
поверхности чашелистика. Увел.15x40



Рисунок 3.2.15 – Простые и
головчатые волоски на поверхности
чашелистика. Увел.15x40



Рисунок 3.2.16 –Клетки
эпидермиса с извилистыми стенками
чашелистика и с головчатыми
волосками. Увел.15x40

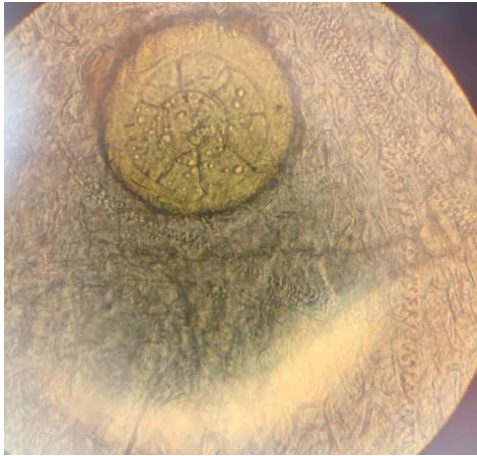


Рисунок 3.2.17 – Эфиромасличная железка на поверхности венчика.

Увел.15x40

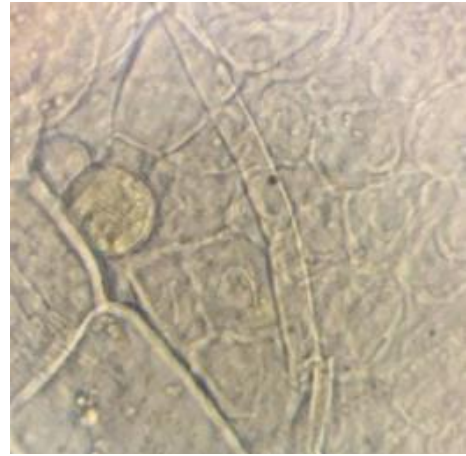


Рисунок 3.2.18 – Округлые клетки эпидермиса венчика с многоклеточным головчатым волоском.

Увел.15x40



Рисунок 3.2.19 – Простые и головчатые волоски на поверхности венчика. Увел.15x40

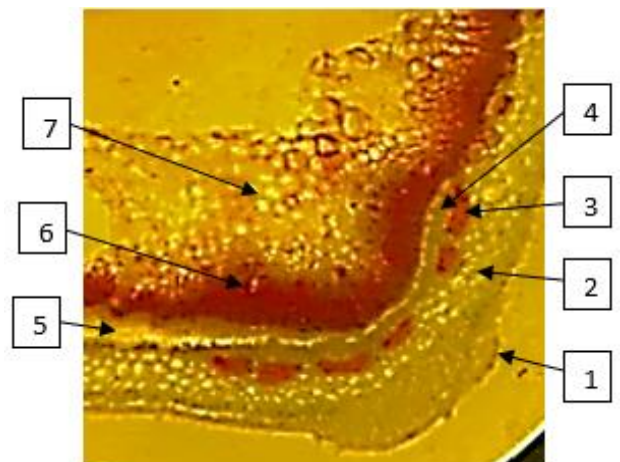


Рисунок 3.2.20 – Фрагмент поперечного среза стебля. Увел. 15x10 (1 – эпидермис стебля, 2 – колленхима, 3 – ксилема, 4 – флоэма, 5 – камбий, 6 – склеренхима, 7 – паренхима)

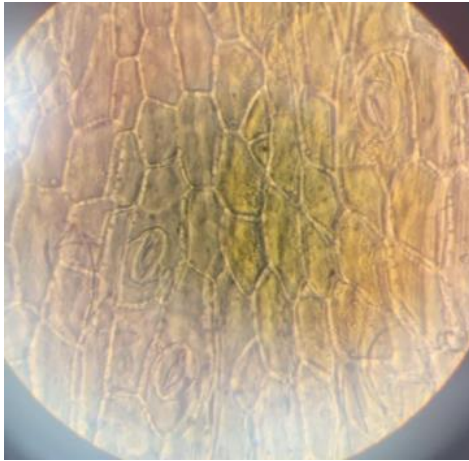


Рисунок 3.2.21 – Эпидермис стебля с устьицами. Увел.15х40

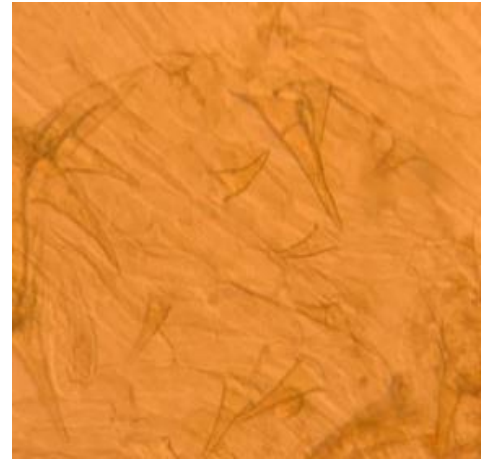


Рисунок 3.2.22 – Эпидермис стебля с простыми волосками.

Увел.15х40

Для разработки показателя диагностически значимых признаков (ДЗП) согласно гл.2. п. 2.2.1. для стандартизации сырья в качестве диагностически значимых выделены следующие анатомические признаки листьев *S.stepposa* и рассчитан показатель ДЗП (таблица 3.2.1):

- устьичный аппарат диацитного типа
- эфиромасличные железки
- волоски простые одноклеточные
- волоски простые многоклеточные
- волоски головчатые на одноклеточной ножке с одноклеточной головкой
- волоски головчатые на многоклеточной ножке с одноклеточной головкой

Таблица 3.2.1 – Метрологическая характеристика методики определения диагностически значимых признаков листьев *S.stepposa*

| N | X_{cp} | S_y | t_a | ϵ_a | $\epsilon_{отп}$ |
|----|----------|-------|-------|--------------|------------------|
| 20 | 56,6 | 0,33 | 2,09 | 0,7 | 1,24 |

Среднее количественное значение ДЗП листьев *S.stepposa* составило $56,6 \pm 0,7\%$.

Таким образом, для включения в проект НД рекомендуется применять показатель качества - ДЗП не менее 55%.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. Результатом макроскопического исследования явилось описание внешних признаки наземной части *S. stepposa*, которые в основном соответствуют существующим данным в научных литературных источниках. Впервые уточнены морфологические особенности, а именно: отсутствие у черешка листа цельной стенки, вместо этого черешок листа как бы «свёрнут» в трубочку, форма черешка листа - крылато-желобчатая, также уточнена форма верхушки листа – острая, а не оттянутая.
2. В результате микроскопического анализа наземной части *S. stepposa* исследованы анатомические признаки и в качестве диагностически значимых выделены следующие анатомо-диагностические признаки листьев *S. stepposa*: устьичный аппарат диацидного типа, эфиромасличные железки, волоски простые одноклеточные, волоски простые многоклеточные, волоски головчатые на одноклеточной ножке с одноклеточной головкой. Впервые уточнено строение эфиромасличных железок *S. stepposa*, что они состоят из восьми выделительных клеток.
3. Впервые рассчитан для количественной оценки диагностически значимых признаков сырья показатель ДЗП, который составил $56,6 \pm 0,7\%$. Согласно проведенным расчётам, готовящийся проект НД целесообразно дополнить показателем качества - ДЗП не менее 55%.

ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *S.STEPPOSA*

4.1. Качественный анализ листьев *S.stepposa*

4.1.1. Качественные реакции

Для проведения качественных реакций из изучаемого сырья были получены водные и спиртовые извлечения. Данные проведения качественного анализа согласно гл. 2, п. 2.2.3.1 представлены в таблице 4.1.1.

Таблица 4.1.1. – Качественный анализ листьев *S.stepposa*

| Группа БАВ | Вид экстрагента | Реактив | Результат |
|----------------------|-----------------|---|---|
| Флавоноиды | 70% спирт | А) 5% раствор ацетата свинца | + осадок хлопьевидный |
| | | Б) 5% спиртовой раствор хлористого алюминия | + желто-зеленое окрашивание (5-оксифлавананы, 5-оксифлавоны) |
| Аскорбиновая кислота | вода | 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия | + обесцвечивание раствора |
| Дубильные вещества | вода | раствор железоаммониевых квасцов | + черно-зеленое окрашивание (пирокатехиновая группа дубильных веществ). |
| Полисахариды | вода | Спирт 95% | + осадок хлопьевидный |
| Сапонины | вода | NaOH 0,1н HCl 0,1н | + устойчивая пена (тритерпеновые сапонины) |
| Кумарины | вода | NaOH 10%, затем HCl 10% | + желтое окрашивание, затем выпадение осадка |
| Фенольные соединения | вода | FeCl ₃ | + черно-зеленое |

Проведенные качественные реакции выявили в листьях *S. stepposa* следующие соединения: флавоноиды (5-оксифлаваны, 5-оксифлавоны); дубильные вещества (пирокатехиновая группа дубильных веществ); сапонины (тритерпеновые); аскорбиновая кислота; полисахариды; кумарины; фенольные соединения.

4.1.2. Исследование химического состава методом тонкослойной хроматографии

Качественный анализ листьев, цветков и травы *S. stepposa* проводили методом ТСХ.

Из восьми исследованных систем (глава 2) относительно хорошее разделение показала система этилацетат - муравьиная кислота - вода (15:3:4), в которой экстракты травы и листьев *S. stepposa* сравнивались с экстрактом листьев *S. officinalis*. Однако пятна не получились четко локализованными (рисунок 4.1.2.1). Значения коэффициентов подвижности представлены в таблице 4.1.2.1.

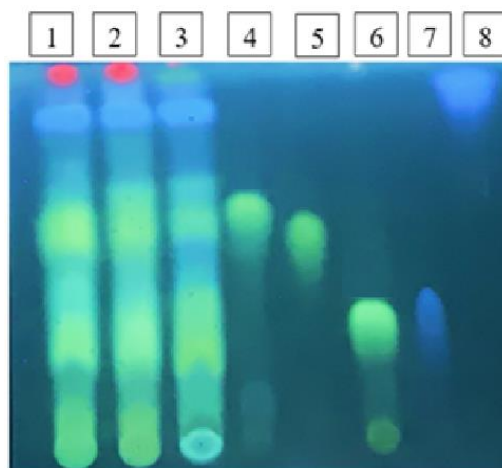


Рисунок 4.1.2.1 – Хроматограмма в системе этилацетат - муравьиная кислота - вода (15:3:4) (1 – экстракт листьев *S. stepposa*, 2 – экстракт травы *S. stepposa*, 3 – экстракт листьев *S. officinalis*, 4 – рутин, 5 – лютеолин-7-глюкозид, 6 – гиперозид, 7 – хлорогеновая кислота, 8 – кофейная кислота)

Таблица 4.1.2.1 – Коэффициенты подвижности для растворов стандартных и исследуемых образцов

| Вещество | Rf (CO) | Rf листья <i>S.stepposa</i> | Rf трава <i>S.stepposa</i> |
|----------------------|---------|-----------------------------|----------------------------|
| Хлорогеновая кислота | 0,67 | 0,69 | - |
| Кофейная кислота | 0,95 | 0,95 | 0,95 |
| Гиперозид | 0,81 | 0,79 | 0,79 |
| Рутин | 0,58 | 0,56 | 0,56 |
| Лютеолин-7-глюкозид | 0,83 | 0,83 | 0,83 |

Наилучшее разделение показала система этилацетат – ЛУК – вода (15:2:2) (рисунок 4.1.2.3). Значения коэффициентов подвижности представлены в таблице 4.1.2.2.

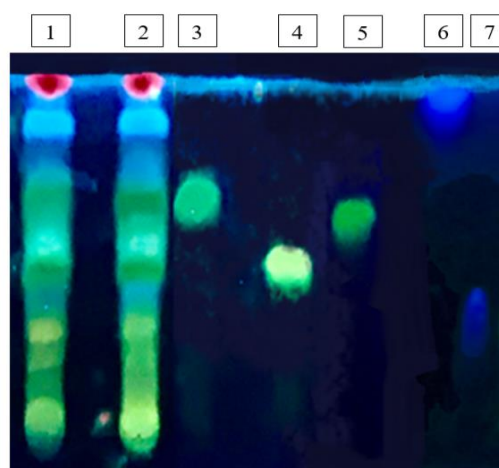


Рисунок 4.1.2.3 – Хроматограмма в системе этилацетат - ЛУК - вода (15:2:2), (1 – экстракт травы *S.stepposa*, 2 – экстракт листьев *S.stepposa*, 3 – лютеолин-7-глюкозид, 4 – рутин, 5 – гиперозид, 6 – кофейная кислота, 7 – хлорогеновая кислота)

Таблица 4.1.2.2 – Коэффициенты подвижности для растворов стандартных и исследуемых образцов

| Вещество | Rf (CO) | Rf листья <i>S.stepposa</i> | Rf трава <i>S.stepposa</i> |
|----------------------|---------|-----------------------------|----------------------------|
| Хлорогеновая кислота | 0,42 | 0,44 | 0,43 |
| Кофейная кислота | 0,87 | 0,87 | 0,87 |
| Гиперозид | 0,63 | 0,62 | 0,62 |
| Рутин | 0,51 | 0,51 | 0,50 |
| Лютеолин-7-глюкозид | 0,66 | 0,66 | 0,65 |

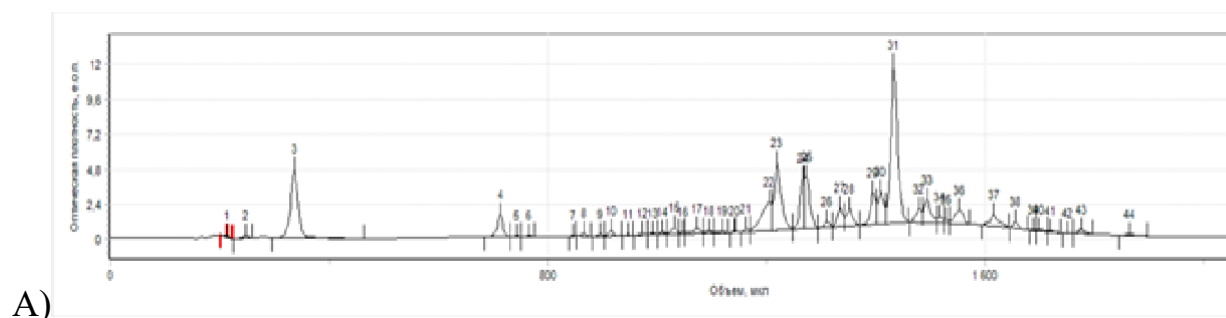
В результате исследований в экстрактах листьев и травы *S. stepposa* установлено присутствие следующих флавоноидов: рутина, лютеолин-7-глюкозида, гиперозида. По интенсивности свечения лютеолин-7-глюкозида на хроматограмме можно сделать предположение о том, что данный флавоноид является основным в сырье *S. stepposa*. Из оксикоричных кислот в экстрактах травы и листьев в *S. stepposa* установлено наличие кофейной и хлорогеновой кислот.

4.1.3. Исследование химического состава методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Одним из эффективных способов исследования химического состава растения для дальнейшего прогноза его потенциальной фармакологической активности является анализ его метаболомного профиля, который осуществляется при помощи методов газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ГХ, ВЭЖХ).

Выявляя мажорные и минорные компоненты сырья, подобные исследования позволяют дать возможную оценку фармакологического потенциала объекта исследования, установить целесообразность его дальнейшего изучения и перспективы внедрения в медицинскую и фармацевтическую практику.

ВЭЖХ анализ экстракта листьев *S. stepposa* проводили по методике, представленной в главе 2, п.2.2.3.1 (рисунок 4.1.3.1, 4.1.3.2, 4.1.3.3, 4.1.3.4).



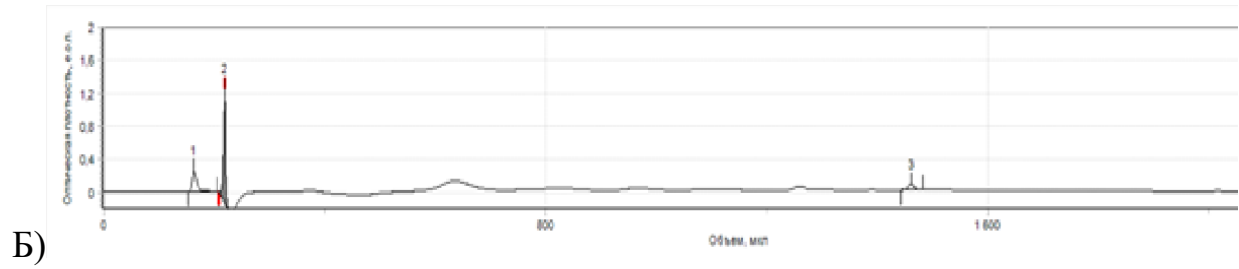


Рисунок 4.1.3.1 – Обнаружение олеаноловой кислоты (А – хроматограмма экстракта листьев *S.stepposa*, Б – хроматограмма СО олеаноловой кислоты)

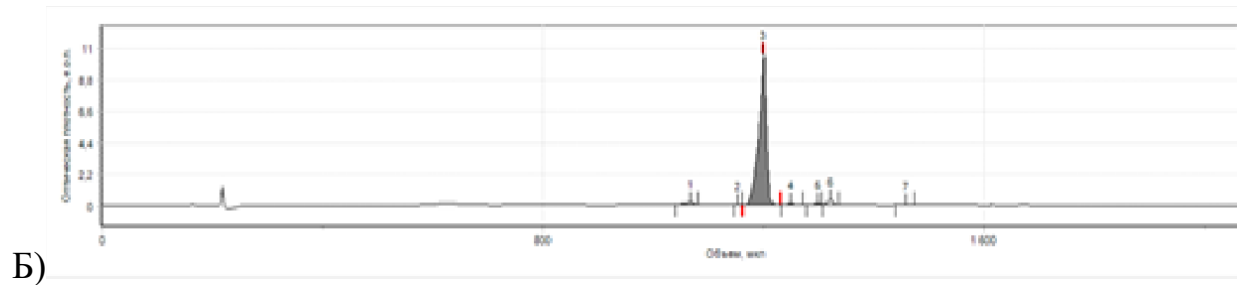
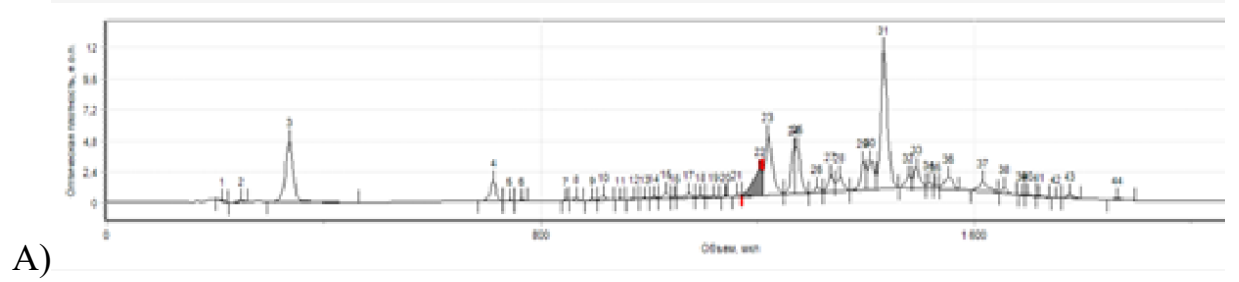


Рисунок 4.1.3.2 – Обнаружение рутина (А – хроматограмма экстракта листьев *S.stepposa*, Б – хроматограмма СО рутина)

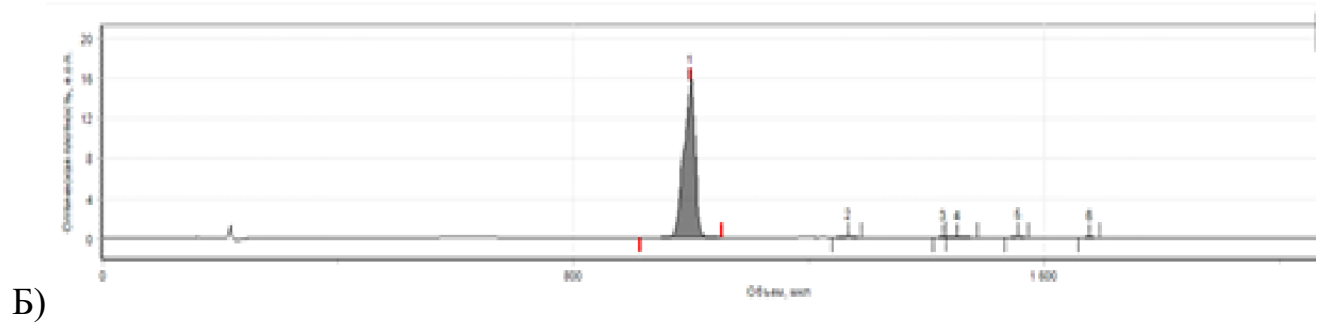
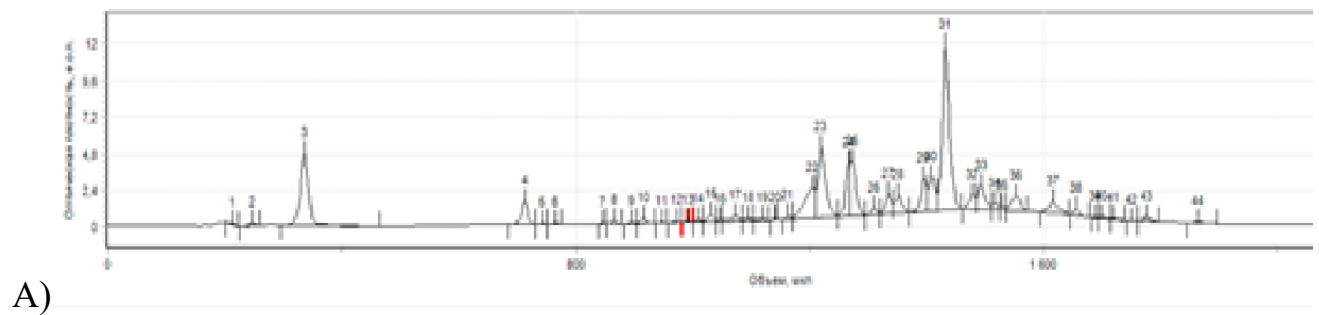


Рисунок 4.1.3.3 – Обнаружение кофейной кислоты (А – хроматограмма экстракта листьев *S.stepposa*, Б – хроматограмма СО кофейной кислоты)

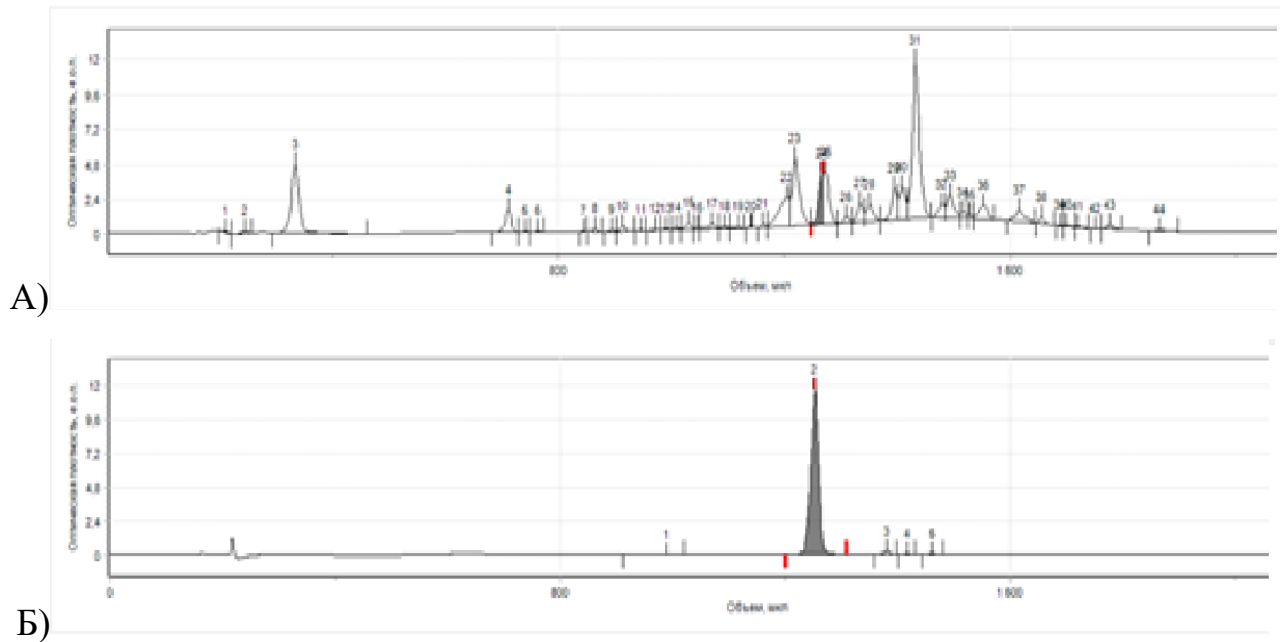


Рисунок 4.1.3.4 – Обнаружение лютеолин-7-глюкозида (А – хроматограмма экстракта листьев *S.stepposa*, Б – хроматограмма СО лютеолин-7-глюкозида)

Согласно полученным результатам, в листьях *S.stepposa* идентифицированы олеаноловая кислота, кофейная кислота, рутин, лютеолин -7-глюкозид.

4.1.4. Исследование метаболомного профиля методом газовой хроматографии с совмещенной масс-спектрометрией

В результате проведенных исследований метаболомного профиля методом ГХ-МС в экстрактах листьев, травы и цветков *S.stepposa*, полученных с использованием в качестве экстрагента - петролейного эфира, получены следующие результаты (таблица 4.1.4.1):

- в листьях *S.stepposa* обнаружено 63 пика и идентифицировано 21 соединение, среди которых преобладающими являются высшие жирные кислоты, алканы, сесквитерпены (рисунок 4.1.4.1);

- в цветках *S. stepposa* обнаружен 81 пик и также идентифицировано 21 соединение, основными из которых являются фитостерины (фитостеролы), высшие жирные кислоты, алканы, терпеноиды различных подгрупп (сесквитерпеноиды, тритерпеноиды) (рисунок 4.1.4.2);

- в траве *S. stepposa* обнаружено 70 пиков и идентифицировано 17 соединений, преимущественно представленных, также, как и в листьях, высшими жирными кислотами и алканами (рисунок 4.1.4.3).

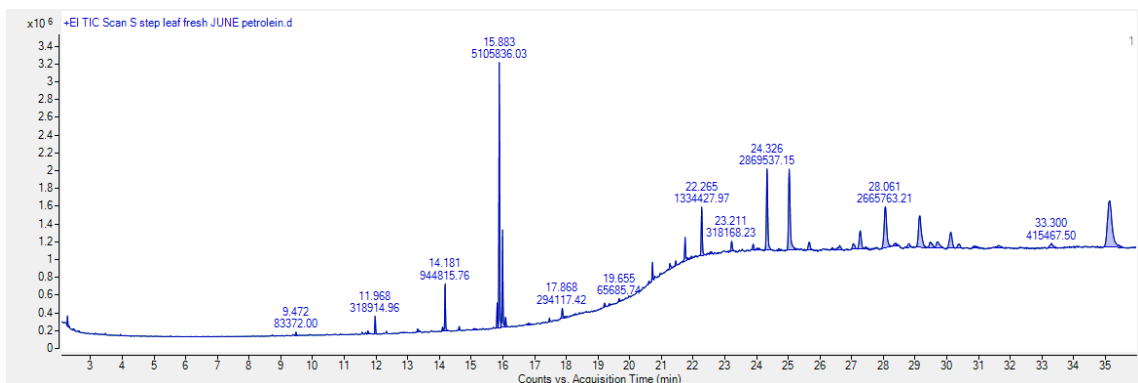


Рисунок 4.1.4.1 – Хроматограмма экстракта листьев *S. stepposa*

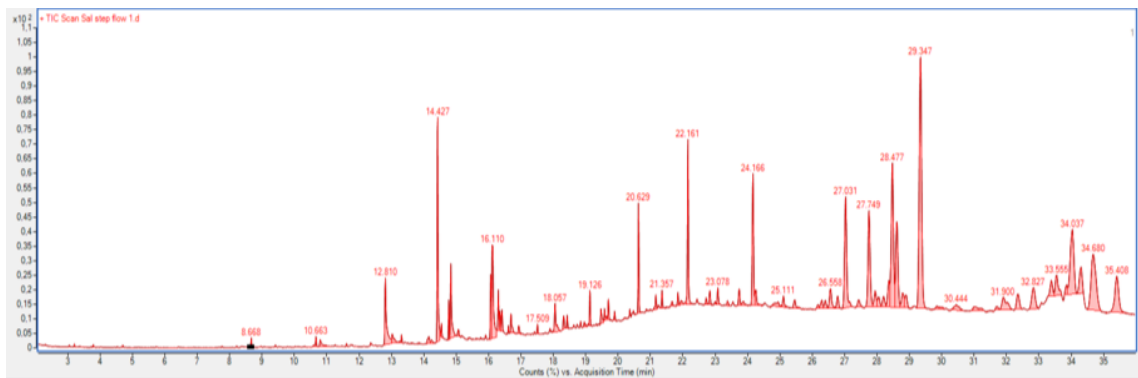
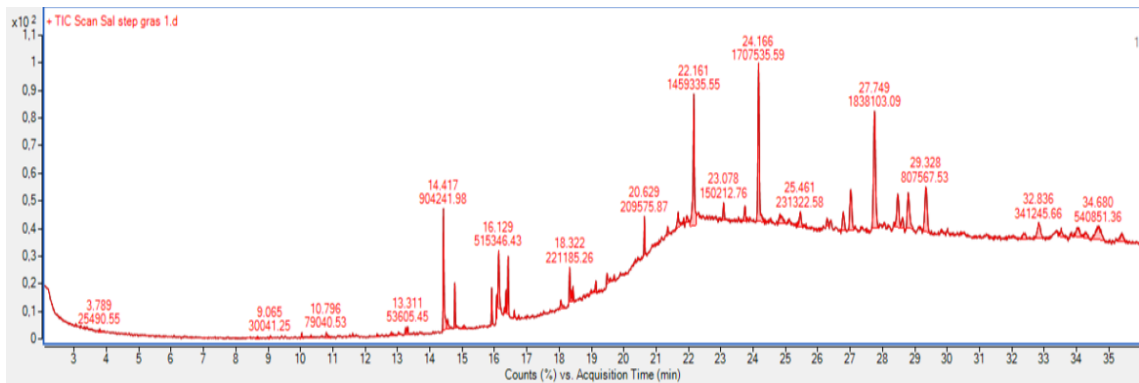


Рисунок 4.1.4.2 – Хроматограмма экстракта цветков *S. stepposa*

Рисунок 4.1.4.3 – Хроматограмма экстракта травы *S.stepposa*Таблица 4.1.4.1 – результаты анализа ГХ-МС сырья *S.stepposa*

| N | Время удерживания, мин | Вещество | Концентрация в пробе, % (площадь пика, $\times 10^6$) | | |
|-----|------------------------|---|---|------------|------------|
| | | | Цветки | Листья | Трава |
| 1. | 8.672 | Caryophyllene | 0.11±0.006 | | |
| 2. | 9.515 | Germacrene D | | 0.02±0.001 | |
| 3. | 10.670 | Caryophyllene oxide | 0.19±0.01 | | |
| 4. | 10.805 | Tetradecanal | 0.25±0.01 | | |
| 5. | 13.030 | Pentadecanal | 0.47±0.02 | | |
| 6. | 13.254 | Neophytadiene | | | 0.11±0.006 |
| 7. | 13.313 | 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl | 0.13±0.007 | | |
| 8. | 13.315 | 1-Vinyl-13-oxabicyclo[10.1.0]tridecane | | | 0.11±0.006 |
| 9. | 14.074 | 7-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- | | 0.46±0.02 | 0.47±0.02 |
| 10. | 14.116 | Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester | | 2.42±0.12 | |
| 11. | 14.427 | n-Hexadecanoic acid | 3.46±0.17 | 6.26±0.31 | 1.68±0.08 |
| 12. | 14.546 | Dibutyl phthalate | | 1.84±0.09 | |
| 13. | 14.593 | Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacontane, 1(22),7(16)-diepoxy- | | 0.15±0.008 | |
| 14. | 14.773 | Hexadecanoic acid, ethyl ester | 0.52±0.03 | 2.25±0.11 | 0.43±0.02 |
| 15. | 14.838 | Palmitoleic acid | 1.89±0.09 | | |

| | | | | | |
|-----|--------|---|-----------|------------|------------|
| 16. | 15.751 | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester | | 1.05±0.05 | 1.20±0.06 |
| 17. | 15.916 | Phytol | | 20.17±1.01 | 14.09±0.70 |
| 18. | 16.068 | Linoelaidic acid | | 1.24±0.06 | 0.33±0.02 |
| 19. | 16.165 | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- | 0.78±0.04 | 41.58±2.07 | 1.85±0.09 |
| 20. | 16.304 | Cyclohexene, 4-(4-ethylcyclohexyl)-1-pentyl- | | | 0.23±0.1 |
| 21. | 16.304 | Octadecanoic acid | 1.27±0.06 | | 3.44±0.17 |
| 22. | 16.355 | Linoleic acid ethyl ester | | 1.08±0.05 | 0.41±0.02 |
| 23. | 16.747 | 9-Tricosene, (Z)- | | | 0.90±0.05 |
| 24. | 18.575 | Butyl 9,12,15-octadecatrienoate | | | 2.22±0.11 |
| 25. | 18.721 | cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid methyl ester | | 1.37±0.07 | |
| 26. | 19.477 | Erucic acid | 0.36±0.02 | | |
| 27. | 22.165 | Triacontane | | 6.38±0.32 | |
| 28. | 24.169 | Tricosane | 3.07±0.15 | 10.14±0.51 | 7.72±0.39 |
| 29. | 25.031 | Vitamin E | | 11.3±0.56 | |
| 30. | 25.748 | p-Menth-8(10)-en-9-ol, cis- | | 2.42±0.12 | |
| 31. | 27.032 | Ursa-9(11),12-dien-3-ol | 4.14±0.21 | | |
| 32. | 27.640 | 17-Pentatriacontene | | 10.09±0.50 | |
| 33. | 27.755 | gamma-Sitosterol | 3.53±0.17 | | |
| 34. | 28.204 | beta-Sitosterol | | 3.56±0.18 | |
| 35. | 28.477 | beta-Amyrin | 5.43±0.27 | | |
| 36. | 28.616 | Germanicol | 3.20±0.16 | | |
| 37. | 29.346 | Lupeol | 9.88±0.49 | | |
| 38. | 33.389 | beta-Amyrone | 2.72±0.14 | | |
| 39. | 34.037 | 3-Hydroxyolean-12-en-1-one | 6.15±0.31 | | |

Анализируя полученные результаты, можно предположить потенциальные биологические свойства, которым может обладать сырье *S. stepposa* (таблица 4.1.4.2).

Таблица 4.1.4.2 – Фармакологические свойства некоторых идентифицированных веществ сырья *S. stepposa*

| Идентифицированное соединение | Фармакологические свойства |
|--|---|
| Germacrene D | Сесквитерпеноидное соединение. Может обуславливать антибактериальные свойства растения [58]. |
| Pentadecanal | Летучий масляный растительный метаболит, исполняющий роль антимикробного агента [80]. |
| Neophytadiene | Биологически активное соединение с широким спектром антибактериальной активности [36]. |
| 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl | Предположительно обладает антибактериальной активностью [32]. |
| n-Hexadecanoic acid | Соединение, относящееся к классу высших предельных карбоновых кислот. Обладает противовоспалительной активностью [69]. |
| Hexadecanoic acid, ethyl ester | Способствует увеличению бифидо- и лактобактерий, обеспечивая нормальную работу кишечника. Улучшает показатели усвоения кальция и минерализации костей [25] |
| Palmitoleic acid | Повышает потребление кислорода, окисление жирных кислот и содержание АТФ в белых адипоцитах [126] |
| Tricyclo[20.8.0.0(7, 16)]triacontane, 1(22),7(16)-diepoxy- | Согласно молекулярным исследованиям обладает сильным сродством к связыванию с белками-мишенями, связанными с заживлением ран [124]. |
| 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- | Биологически активное соединение, способное индуцировать повреждение ядра раковых к толстой кишки в человеческом организме и проявлять к ним цитотоксическое действие [85]. |

| | |
|---|--|
| 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- | Способствует снижению воспалительных и гипертермических реакций, обладает иммуномодулирующим и антиоксидантным действием [10] |
| Linoleic acid ethyl ester | Согласно исследованиям, обладает противодиабетическим, гипохолестеринемическим [88] и антиатеросклеротическим действием [65]. |
| cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid methyl ester | Эйкозатриеновая кислота и её производные могут оказывать вазодилатирующий, антиагрегационный и противовоспалительный эффекты [19] |
| Phytol | Способен повышать в ЦНС уровень нейромедиатора ГАМК, ответственного за противосудорожную и седативную активность [134], оказывать анксиолитический, цитотоксический, антиоксидантный, аутофаговый, апоптический, антиноцицептивный, противовоспалительный, иммуномодулирующий и антимикробный эффекты. [135] |
| Linoelaidic acid | Обладает противоопухолевой активностью [64] |
| Octadecanoic acid | Стеариновая кислота уменьшает количество грамположительных бактерий в организме [39]. |
| Ursa-9(11),12-dien-3-ol | Может служить источником экспериментальных противораковых агентов [155]. |
| 17-Pentatriacontene | Обладает противовоспалительными, противораковыми, антибактериальными и антиартрическими свойствами [91]. |
| gamma-Sitosterol | Обладает потенциалом противоракового агента [162]. |

| | |
|-----------------------------|--|
| beta-Sitosterol | Обладает выраженным гипохолестеринемическим действием. Является источником препаратов лечения доброкачественной гиперплазии предстательной железы [31] |
| beta-Amyrin | Бета-амирин - тритерпеноид, обладающий гепатопротекторным действием [27]. Предшественник олеаноловой кислоты. |
| Lupeol | Данный тритерпеноид и его сложноэфирное производное показали нефропротективные свойства [140]. Обладает противовоспалительной и противоопухолевой активностью [116]. |
| Vitamin E | Обуславливает высокий антиоксидантный потенциал растения. Участвует во многих метаболических процессах организма. [139] |
| p-Menth-8(10)-en-9-ol, cis- | Относится к группе монотерпеноидов, обладает антимикробным действием [40]. |
| beta-Amyrone | Тритерпеноид, проявляющий противогрибковую и антиацетилхолинэстеразную активность [81]. |

Согласно проведенным исследованиям, листья *S. stepposa* показали высокую концентрацию веществ, обуславливающих противовоспалительное (α -линоленовая – 41.58%, фитол – 20.17%, пальмитиновая кислота – 6.26 %), противосудорожное и анксиолитическое (фитол – 20.17%), антиоксидантное (фитол – 20.17%, витамин E - 11.3%), антибактериальное (фитол – 20.17%, стеариновая кислота – 6.26 %), гипохолестеринемическое (бета-ситостерол - 3.56%) и противоканцерогенное действие (17-пентатриаконтен - 10.09%, бета-ситостерол – 3.56%, линоэлаидовая кислота - 1.24%). Помимо этого, также листья *S. stepposa* могут обладать антиагрегационным эффектом (метилловый эфир эйкозатриеновой кислоты – 1.37%).

Цветки *S. stepposa* значительно отличаются по качественному составу, и концентрация биологически значимых веществ в них меньше (лупеол-9.88%, бета-амирин – 5.43%, урса-9(11),12-диен-3-ол - 4.14%, гамма-ситостерол – 3.53%, бета-амирон - 2.72%).

Менее разнообразным химическим составом обладает трава *S. stepposa* (фитол – 14.09%, стеариновая кислота – 1.68 %, α -линоленовая – 1,85%, линоэлаидовая кислота - 0.33%) (рисунок 4.1.4.2).

Таким образом, на данном этапе исследований наибольший интерес дальнейшего изучения представляют собой листья *S. stepposa* [23].

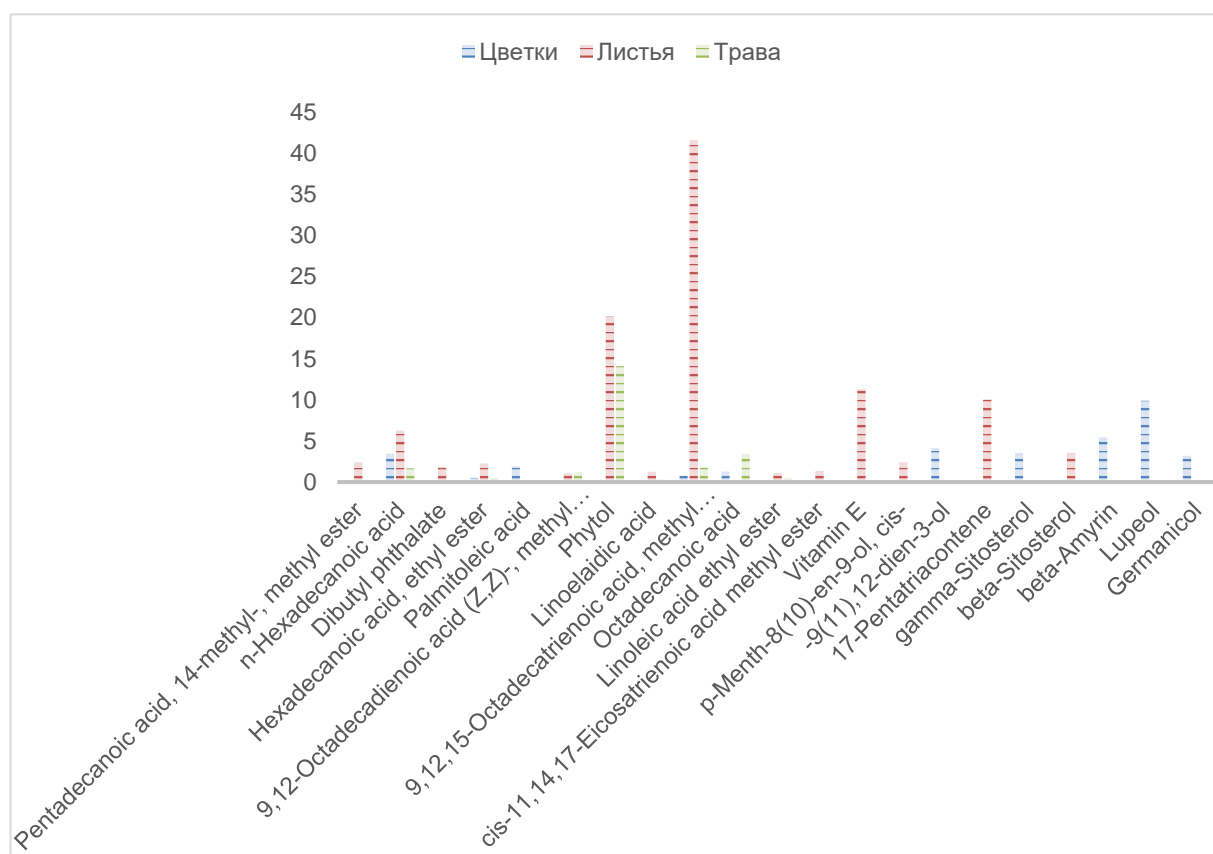


Рисунок 4.1.4.2 – Сравнение метаболомного профиля различных частей наземной части растения *S. stepposa*

Также методом ГХ/МС было проведено исследование химического состава эфирного масла листьев *S. stepposa* (таблица 4.1.4.3, рисунок 4.1.4.3).

Таблица 4.1.4.3 – Результаты анализа эфирного масла (гидралата) *S.stepposa* методом ГХ-МС

| № | Время удерживания | Концентрация, % | Соединение |
|----|-------------------|-----------------|---|
| 1 | 2.174 | 10,45 | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- |
| 2 | 3.193 | 13,1 | 1-Octen-3-ol |
| 3 | 10.634 | 34,98 | Globulol |
| 4 | 10.735 | 4,04 | Ledol |
| 5 | 12.977 | 0,66 | Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl- |
| 6 | 13.057 | 3,07 | Isopropyl myristate |
| 7 | 13.371 | 2,03 | 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl |
| 8 | 13.721 | 0,53 | Z-5-Nonadecene |
| 9 | 14.474 | 5,61 | n-Hexadecanoic acid |
| 10 | 14.527 | 9,15 | Oleic Acid |
| 11 | 14.613 | 1,07 | 1,4-Dibutyl benzene-1,4-dicarboxylate |
| 12 | 14.882 | 0,77 | Eicosane |
| 13 | 15.121 | 1,01 | Isopropyl palmitate |
| 14 | 15.691 | 1,34 | Cycloeicosane |
| 15 | 15.820 | 0,51 | N-heneicosane |
| 16 | 15.879 | 0,56 | 3-Phenyl-1,4(E)-dodecadiene |
| 17 | 15.995 | 54,34 | Phytol |
| 18 | 16.192 | 12,6 | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- |
| 19 | 16.266 | 0,51 | Triacetyl acetate |
| 20 | 16.718 | 0,94 | Docosane |
| 21 | 17.248 | 0,69 | N,N-dimethylhexadecanamide |
| 22 | 17.579 | 1,24 | Tricosane |
| 23 | 18.240 | 0,62 | 9-Octadecenamide, (Z)- |
| 24 | 18.406 | 1,18 | Tetracosane |
| 25 | 18.717 | 5,21 | Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl- |
| 26 | 19.202 | 1,18 | Pentacosane |

| | | | |
|----|--------|------|---|
| 27 | 34.906 | 7,06 | Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, octadecyl ester |
|----|--------|------|---|

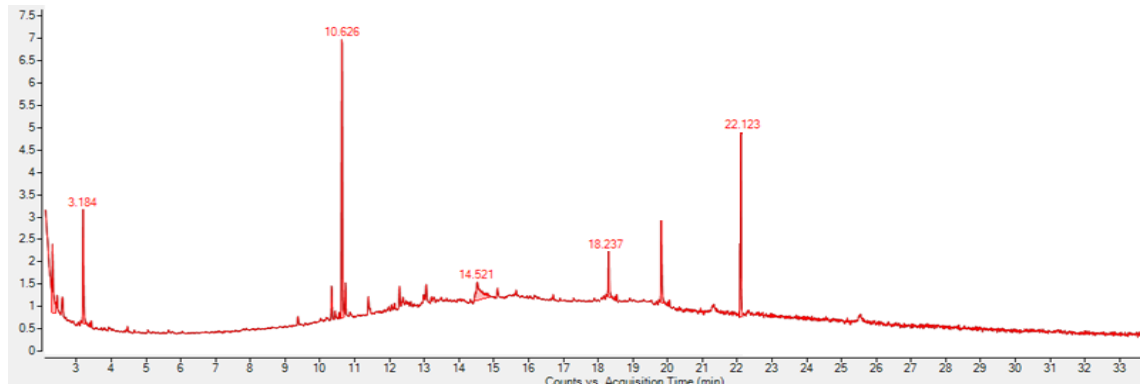


Рисунок 4.1.4.3 – Хроматограмма эфирного масла листьев *S. stepposa*

Среди наиболее важных идентифицированных компонентов эфирного масла листьев *S. stepposa* можно выделить такие, как глобулол (рисунок 4.1.4.4) , обладающий противовирусным действием в отношении SARS (COVID-19); ледол (рисунок 4.1.4.5), обладающий противокашлевым действием; фитол (рисунок 4.1.4.6) – способствующий выработке ГАМК; октадекадиеновая кислота, обладающая цитотоксическим действием; олеиновая кислота, обладающая антиоксидантным действием [21, 97, 132].

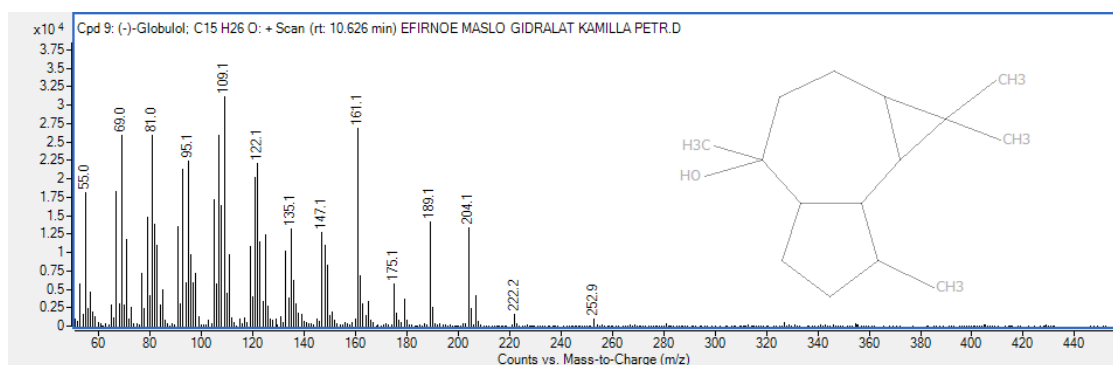


Рисунок 4.1.4.4 – Масс-спектр глобулола, идентифицированного в эфирном масле листьев *S. stepposa*

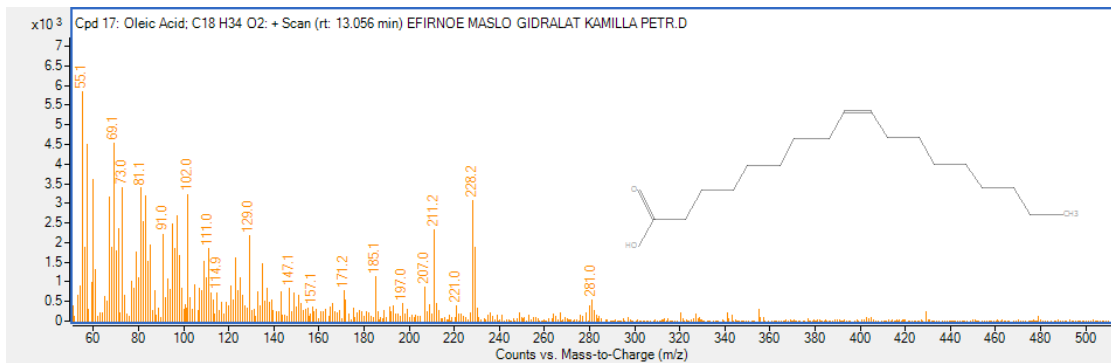


Рисунок 4.1.4.5 – Масс-спектр олеиновой кислоты, идентифицированной в эфирном масле листьев *S.stepposa*

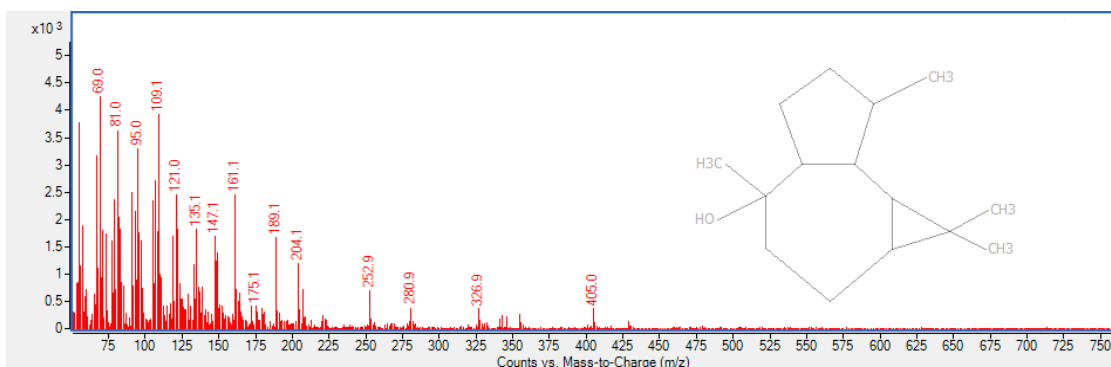


Рисунок 4.1.4.6 – Масс-спектр ледола, идентифицированного в эфирном масле листьев *S.stepposa*

Таким образом, впервые при помощи метода ГХ-МС в листьях *S.stepposa* были обнаружены такие вещества, как глобулол и ледол, обладающие противовирусной и противокашлевой активностью соответственно.

4.2. Количественный анализ БАВ в листьях *S.stepposa*

Динамика накопления БАВ в листьях S.stepposa

В качестве приоритетных групп для определения оптимального периода заготовки сырья, были выбраны флавоноиды, дубильные вещества и аскорбиновая кислота. Количественное содержание данных групп проводили согласно главе 2, п. 2.2.3.2. Полученные данные представлены в таблице 4.2.1.

Таблица 4.2.1 – Количественное содержание БАВ в листьях *S. stepposa* в разные периоды жизненного цикла (n=5)

| Вещества | Количественное содержание в период до начала цветения, % | Количественное содержание в период цветения, % | Количественное содержание в период плодоношения, % |
|----------------------|---|---|---|
| Дубильные вещества | 8,32 ±0,24 E _% =2,88 E _a =0,24 t _α =2,77 S _x =0,08 | 9,31 ±0,43 E _% =4,62 E _a =0,43 t _α =2,77 S _x =0,15 | 9,96 ±0,21 E _% =2,10 E _a =0,21 t _α =2,77 S _x =0,07 |
| Аскорбиновая кислота | 0,14 ±0,005 E _% =3,57 E _a =0,005 t _α =2,77 S _x =0,002 | 0,17 ±0,003 E _% =1,76 E _a =0,003 t _α =2,77 S _x =0,001 | 0,14 ±0,004 E _% =2,86 E _a =0,004 t _α =2,77 S _x =0,001 |
| Флавоноиды | 1,05 ±0,03 E _% =2,85 E _a =0,03 t _α =2,77 S _x =0,1 | 2,09 ±0,04 E _% =1,91 E _a =0,04 t _α =2,77 S _x =0,01 | 1,56 ±0,02 E _% =1,28 E _a =0,02 t _α =2,77 S _x =0,007 |

Количественный анализ сырья на предмет накопления БАВ показал следующие результаты:

- сумма дубильных веществ достигает максимума в период плодоношения, но достоверно не отличается от периода цветения;
- количество аскорбиновой кислоты достигает максимума в период цветения и незначительно ниже в другие фазы;
- количество флавоноидов существенно выше в период цветения и существенно снижается к фазе плодоношения.

Таким образом, мы можем сделать вывод о том, что оптимальное накопление БАВ в листьях *S. stepposa* происходит в период цветения растения.

Сравнительный анализ количественного содержания БАВ в различных частях S. stepposa

Также был проведен сравнительный анализ содержания флавоноидов и дубильных веществ в различных частях *S. stepposa* (таблица 4.2.2.1),

Таблица 4.2.2.1 - Количественное содержание флавоноидов, дубильных веществ и аскорбиновой кислоты в различных частях *S. stepposa* (n=5)

| Наземная часть | Содержание флавоноидов | Содержание дубильных веществ | Содержание аскорбиновой кислоты |
|----------------|--|--|---|
| Листья | 2,09±0,04 E%=1,91 E _a =0,04 t _α =2,77 S _x =0,01 | 9,31±0,43 E%=4,62 E _a =0,43 t _α =2,77 S _x =0,15 | 0,17 ±0,003 E%=1,76 E _a =0,003 t _α =2,77 S _x =0,001 |
| Трава | 1,4±0,06 E%=4,28 E _a =0,06 t _α =2,77 S _x =0,02 | 8,30±0,31 E%=3,73 E _a =0,31 t _α =2,77 S _x =0,11 | 0,13 ±0,001 E%=0,77 E _a =0,001 t _α =2,77 S _x =0,0003 |
| Цветки | 0,8±0,04 E%=5,00 E _a =0,04 t _α =2,77 S _x =0,01 | 7,27±0,35 E%=4,81 E _a =0,35 t _α =2,77 S _x =0,96 | 0,07 ±0,003 E%=4,28 E _a =0,003 t _α =2,77 S _x =0,001 |

Согласно полученным данным, наибольшая концентрация исследуемых групп веществ наблюдается в листьях *S. stepposa*. Это свидетельствует о том, что именно листья можно рассматривать в качестве перспективного сырья *S. stepposa*.

Количественное определение эфирного масла в листьях S. stepposa

Результаты определения количественного содержания эфирного масла (глава 2, п. 2.2.3.2) представлены в таблице 4.2.3.1 [13].

Таблица 4.2.3.1 - Количественное содержание эфирного масла в листьях *S. stepposa* (n=5)

| Период заготовки сырья | Количественное содержание эфирного масла в листьях <i>S. stepposa</i> |
|------------------------|---|
| Период вегетации | 0,08±0,0005 E%=0,63 |

| | |
|---------------------|--|
| | $E_a=0,0005$ $t_\alpha=2,78$ $S_x=0,0002$ |
| Период цветения | $0,125\pm 0,003$ $E_\% = 2,40$ $E_a = 0,003$ $t_\alpha = 2,78$ $S_x = 0,001$ |
| Период плодоношения | $0,04\pm 0,002$ $E_\% = 5,00$ $E_a = 0,002$ $t_\alpha = 2,78$ $S_x = 0,0007$ |

Таким образом, максимальная концентрация эфирного масла в *S. stepposa* достигается в период цветения и составляет $0,125\% \pm 0,003$. Низкое содержание эфирного масла объясняется климатом, в котором произрастает данный вид. Как известно, на концентрацию эфирного масла положительно влияет умеренная засуха и жаркий климат, а Республика Башкортостан находится в умеренной климатической зоне со средней влажностью [131]. По этой причине *S. stepposa*, произрастающий во флоре Башкортостана будет отличаться невысоким содержанием эфирного масла.

4.3. Элементный анализ сырья

В листьях *S. stepposa* было исследовано содержание микроэлементов согласно главе 2 п. 2.2.3. Результаты элементного анализа приведены в таблице 4.3.1.

Таблица 4.3.1 – Результаты элементного анализа *S. stepposa* (n=8), мг/кг

| Cu | Zn | Fe | Mn | Cd | Ni | Co | Cr |
|---|--|---|--|--|--|---|---|
| $10,06\pm 0,13$ | $18,43\pm 0,64$ | $71,88\pm 1,19$ | $26,95\pm 0,49$ | $0,007\pm 0,00002$ | $1,36\pm 0,014$ | $0,13\pm 0,01$ | $0,69\pm 0,02$ |
| $E_\% = 1,29$ $E_a = 0,13$ $t_\alpha = 2,37$ $S_x = 0,053$ | $E_\% = 3,47$ $E_a = 0,64$ $t_\alpha = 2,37$ $S_x = 0,27$ | $E_\% = 1,65$ $E_a = 1,19$ $t_\alpha = 2,37$ $S_x = 0,5$ | $E_\% = 1,81$ $E_a = 0,49$ $t_\alpha = 2,37$ $S_x = 0,21$ | $E_\% = 0,28$ $E_a = 0,00002$ $t_\alpha = 2,37$ $S_x = 0,00001$ | $E_\% = 1,02$ $E_a = 0,014$ $t_\alpha = 2,37$ $S_x = 0,006$ | $E_\% = 0,76$ $E_a = 0,001$ $t_\alpha = 2,37$ $S_x = 0,0004$ | $E_\% = 2,89$ $E_a = 0,02$ $t_\alpha = 2,37$ $S_x = 0,008$ |

Согласно полученным данным, преобладающими элементами в сырье *S. stepposa* являются железо, цинк и марганец. Данные элементы являются компонентами многочисленных ферментов, участвующих в метаболизме веществ, восстановлениях, окислительно-восстановительных реакциях и синтезе биологически активных соединений. Например, железо входит в состав гемоглобина и миоглобина, а также является частью ферментов, участвующих в энергетическом обмене (цитохромы). Цинк важен для функционирования Т-лимфоцитов и иммунных клеток, а железо — для продукции лейкоцитов. Марганец участвует в активации антиоксидантных ферментов, таких как глутатионпероксидаза, которые защищают клетки от окислительного повреждения [59, 136].

Содержание таких элементов в растительном сырье указывает на перспективность *S. stepposa* как лекарственного сырья и нутрицевтика.

4.4. Сравнительный анализ химического состава и биологической активности *S. stepposa* и *S. officinalis*

S. officinalis – официальное и хорошо изученное растение семейства *Lamiaceae*. Он содержит широкий спектр различных БАВ, например, таких как, углеводы, жирные кислоты, гликозидные и фенольные соединения, терпеноиды и т.д. [28, 43, 71, 72, 73, 75, 78, 95, 96, 113, 121, 132, 133, 144, 147, 156, 161]. Фармакологическая активность *S. officinalis* включает в себя антиоксидантную, антимикробную, фунгистатическую, нейропротективную, гиполипидемическую и противовоспалительную активность [63, 67, 70, 72, 73, 79, 84, 89, 92, 90, 93, 101, 103, 106, 107, 108, 109, 111, 113, 128, 133, 136, 142, 143, 144,].

В связи с принадлежностью данного вида и изучаемого нами растения к одному роду, была рассмотрена возможность использования *S. stepposa* в качестве дополнительного производящего растения к листьям *S. officinalis* и проведено

сравнительное исследование химического состава и фармакологической активности данных видов.

Тонкослойная хроматография

Для сравнительного химического анализа листьев *S. stepposa* и *S. officinalis* методом ТСХ использовалась методика, приведенная в главе 2, п. 2.2.3.1 (рисунок 4.4.1, таблица 4.4.1)

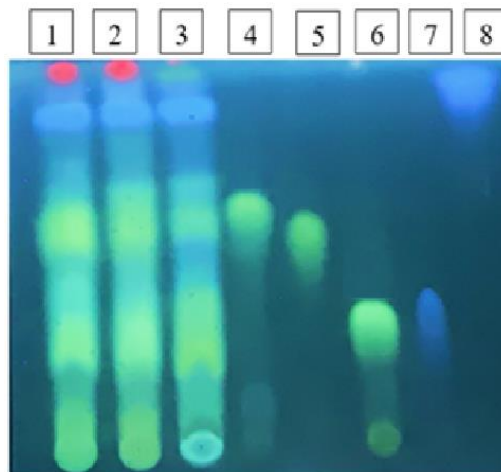


Рисунок 4.4.1 – Хроматограмма в системе этилацетат – муравьиная кислота – вода (15:3:4) (1 – экстракт листьев *S. stepposa*, 2 – экстракт травы *S. stepposa*, 3 – экстракт листьев *S. officinalis*, 4 – рутин, 5 – лютеолин-7-глюкозид, 6 – гиперозид, 7 – хлорогеновая кислота, 8 – кофейная кислота)

Таблица 4.4.1 – Коэффициенты подвижности для растворов стандартных и исследуемых образцов

| Вещество | Rf (CO) | Rf листья <i>S. stepposa</i> | Rf трава <i>S. stepposa</i> | Rf листья <i>S. officinalis</i> |
|----------------------|---------|------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Хлорогеновая кислота | 0,42 | 0,44 | - | 0,46 |
| Кофейная кислота | 0,87 | 0,87 | 0,87 | 0,87 |
| Гиперозид | 0,63 | 0,62 | 0,62 | 0,62 |
| Рутин | 0,51 | 0,51 | 0,50 | 0,50 |
| Лютеолин-7-глюкозид | 0,66 | 0,66 | 0,65 | 0,65 |

Сравнивая полученные данные видно, что листья обоих видов содержат идентичные соединения и наблюдается схожий хроматографический профиль.

Анализ УФ-спектров экстрактов обоих растений также показывает схожие максимумы поглощения в УФ-области, а именно: *S. stepposa* имеет максимумы поглощения при длинах волн 328 нм и 282 нм, а листья *S. officinalis* - при 330 нм и 284 нм, *S. stepposa* имеет минимумы поглощения при длинах волн 303 нм и 260 нм, а *S. officinalis* - при 304 нм и 263 нм (таблица 4.4.2, рисунок 4.4.2).

Таблица 4.4.2 – Сравнение УФ-спектров экстрактов *S. stepposa* и *S. officinalis*

| Вид растения | Максимум поглощения | Соответствует какому соединению (предположительно) | Максимум поглощения соответствующего соединения |
|-----------------------|----------------------------|---|--|
| <i>S. stepposa</i> | 328 нм | Хлорогеновая кислота [4] | 328 ±2 нм |
| <i>S. officinalis</i> | 330 нм | | |
| <i>S. stepposa</i> | 282 нм | Карнозоловая кислота [57] | 285 ±2 нм |
| <i>S. officinalis</i> | 284 нм | | |

При добавлении комплексообразователя (хлорида алюминия) наблюдается батохромный сдвиг, и у исследуемых экстрактов обоих видов максимум поглощения наблюдается при длине волны 394±2 нм (рис.4.4.3).

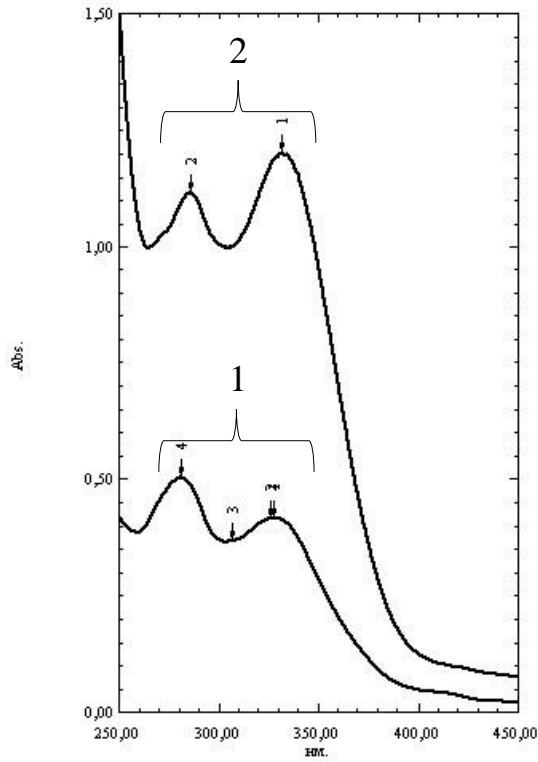


Рисунок 4.4.2 – УФ-спектры экстрактов листьев без добавления алюминия хлорида (1 - *S. stepposa*, 2 – *S. officinalis*)

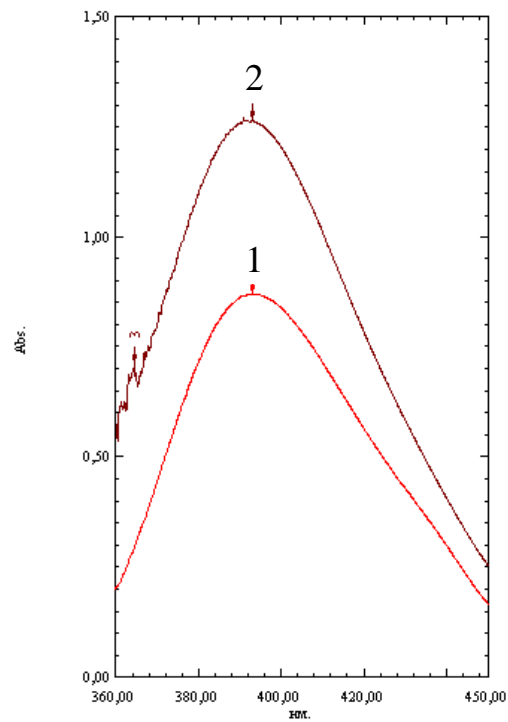


Рисунок 4.4.3 – УФ-спектры экстрактов листьев после добавления алюминия хлорида (1 - *S. stepposa*, 2 - *S. officinalis*)

Согласно литературным данным *S.officinalis* содержит в себе сумму веществ из группы дитерпеновых кислот, обуславливающих антимикробную активность растения [53, 57].

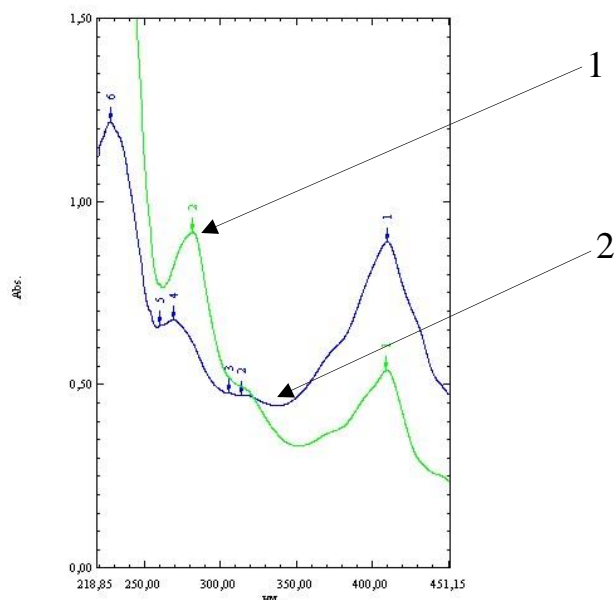


Рисунок 4.4.4 – УФ-спектры петролейных экстрактов (1 - *S. officinalis*, 2 - *S. stepposa*)

Исследование УФ-спектров петролейных экстрактов растений *S.officinalis* и *S.stepposa* показало, что экстракт листьев *S.officinalis* имеет четко выраженный максимум поглощения при длине волны 285 ± 2 нм (рисунок 4.4.4), соответствующий карнозоловой кислоте (дитерпеновая кислота). Однако, в УФ-спектрах петролейных экстрактов листьев, травы и цветков *S.stepposa* не наблюдались максимумы поглощения при указанной длине волны, характерной для карнозоловой кислоты.

При помощи ГХ-МС также были проанализированы и сравнены петролейные экстракты листьев обоих видов *Salvia L.* (таблица 4.4.4, рисунок 4.4.5)

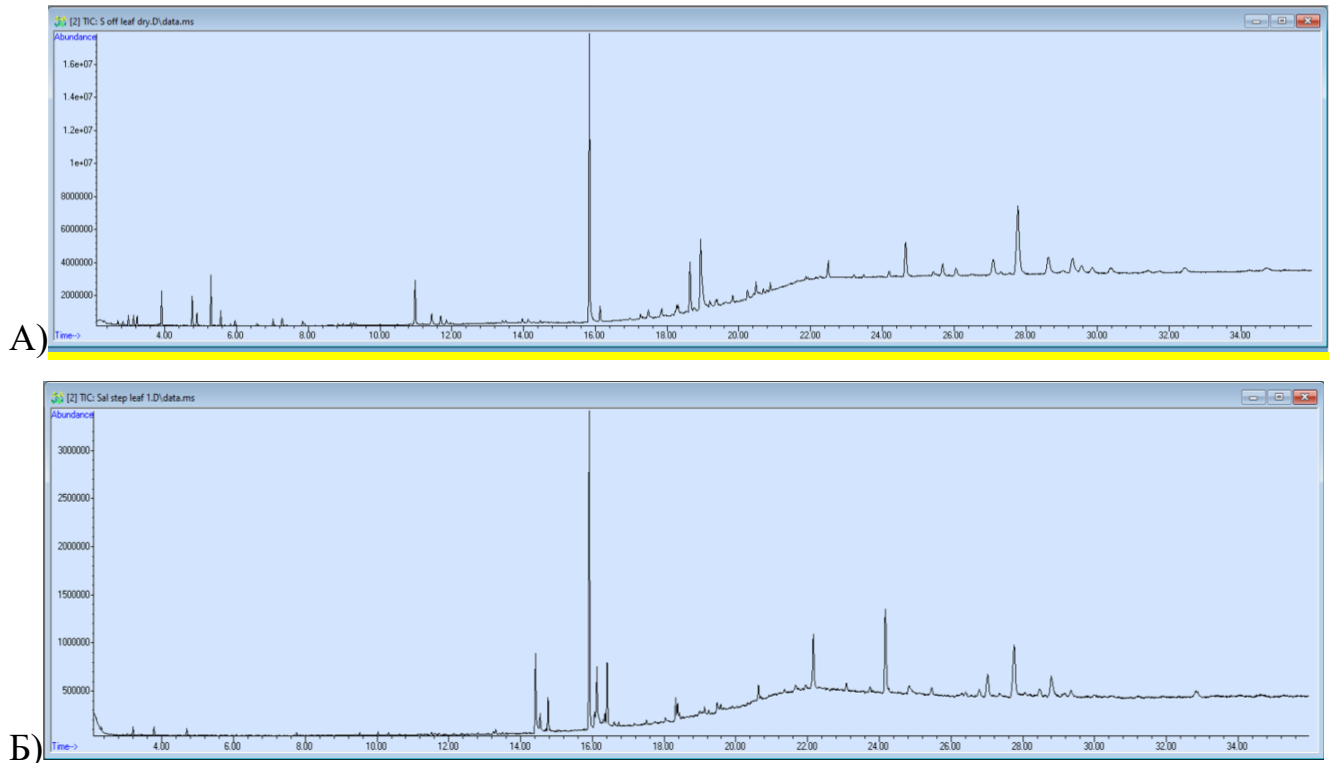


Рисунок 4.4.5 – Хроматограммы петролейных экстрактов (А - экстракт листьев *S.officinalis*, Б - экстракт листьев *S.stepposa*)

Таблица 4.4.4 – Сравнительный анализ результатов ГХ-МС экстрактов *S.officinalis* и *S.stepposa*

| Время удерживания | Вещество | <i>S. officinalis</i> , | <i>S.stepposa</i> , |
|-------------------|--|-------------------------|---------------------|
| | | конц % | конц % |
| 2.905 | 2-Pinene | 0.02 | |
| 2.987 | (1S)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene | 0.10 | |
| 3.134 | Camphene | 0.18 | |
| 3.214 | Benzene, 1-ethyl-3-methyl- | 0.01 | |
| 3.785 | Benzenemethanol | | 0.5 |
| 3.385 | .beta.-Pinene | 0.12 | |
| 3.534 | Benzene, 1,2,4-trimethyl- | 0.01 | |
| 3.911 | Eucalyptol | 0.22 | |
| 4.626 | E,Z-1,3,12-Nonadecatriene | 0.01 | |

| | | | |
|--------|---|------|-------|
| 4.683 | Tetradecahydrocyclododeca[c]furan5-Cyclohexadecen-1-one | 0.01 | |
| 4.771 | Thujone | 0.44 | |
| 5.288 | (+)-2-Bornanone | 0.58 | |
| 5.563 | Borneol | 0.07 | |
| 5.677 | Cyclohexene, 4-(4-ethylcyclohexyl)-1-pentyl- | 0.01 | |
| 5.919 | is,cis,cis-7,10,13-Hexadecatriena | 0.01 | |
| 7.020 | 1,3,3-Trimethylbicyclo[2.2.1]hept-2-yl acetate | 0.01 | |
| 7.857 | 2,2-Dimethyl-3-vinylbicyclo[2.2.1]heptane | 0.07 | |
| 8.838 | Caryophyllene | 0.07 | |
| 9.065 | 5,14,23-Octadecatrien-14,15-diol | 0.01 | |
| 9.270 | alpha.-Humulene | 0.12 | |
| 9.356 | (9E,11E)-Octadecadienoic acid | 0.01 | |
| | Globulol | | 34.98 |
| 10.986 | Ledol | 0.24 | 4.04 |
| 11.177 | (1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene | 0.03 | |
| 14.073 | 1,9-Tetradecadiene | 0.01 | |
| 14.074 | 7-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- | | 2.42 |
| 14.427 | n-Hexadecanoic acid | | 6.26 |
| 14.546 | 1,4-Dibutyl benzene-1,4-dicarboxylate | | 1.84 |
| 14.773 | Hexadecanoic acid, ethyl ester | | 2.25 |
| 15.817 | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester | | 10.13 |
| 15.916 | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- | | 20.17 |
| 16.068 | Phytol | | 1.24 |
| 16.131 | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- | | 7.51 |
| 16.355 | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- | | 1.08 |
| 16.421 | Linoleic acid ethyl ester | | 4.89 |
| 16.973 | Tetradecahydrocyclododeca[c]furan | 0.04 | |
| 17.267 | Cyclopropaneoctanal, 2-octyl- | 0.11 | |
| 17.857 | (R)-(-)-14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol | 0.07 | |
| 18.641 | 12-Methoxycarnosic acid | 0.31 | |
| 18.721 | cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid methyl ester | | 1.37 |

| | | | |
|--------|--|------|-------|
| 22.165 | Triacontane | | 6.38 |
| 22.177 | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- | 2.00 | |
| 24.169 | Tricosane | | 10.14 |
| 26.353 | Olean-12-ene-3,16,22,28-tetrol, cyclic 16,22-(1-methylethylidene ace | 0.84 | |
| 27.786 | Tricosane | 6.30 | |

Согласно проведённому анализу в сырье *S.officinalis* преобладают монотерпеновые углеводороды 2-пинен, туйон, камфен. В сырье *S.stepposa* преобладает наличие жирных кислот, а также спирты глобулол, ледол и фитол. Также согласно данным исследованиям, в листьях *S.officinalis* идентифицирована метоксикарнозоловая кислота (дистерпеновая кислота), а в листьях *S.stepposa* нет, что доказывает наши предположения при анализе их УФ-спектров. Следовательно, исследуемые образцы показали разный химический состав липофильных фракций.

Также, согласно методике в главе 2, п.2.2.4 проводилась оценка влияния экстрактов обоих видов *Salvia L.* на систему гемостаза (таблица 4.4.5).

Таблица 4.4.5 – Исследование антиагрегационной и антикоагулянтной активности настоев листьев *S.officinalis* и *S.stepposa*

| Шифр | Латентный период, % к контролю | Максимальная амплитуда, % к контролю | Скорость агрегации, % к контролю | Время достижения МА, % к контролю | АПТВ, % к контролю |
|-----------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| Листья <i>S.stepposa</i> | -2,1 (1,8–3,4) ^{††} | - 3,2 (2,5–4,8) ^{††, #} | -4,5 (3,3–5,1) ^{††, #} | -2,7 (1,5–4,1) ^{††, ##} | +8,5 (6,7–10,3) |
| Листья <i>S.officinalis</i> | +3,8 (3,2–4,7) ^{*, ††, #} | -11,8 (10,3–12,7) ^{*, ††} | -8,4 (6,2–9,3) ^{*, ††} | +11,4 (9,3–12,8) ^{*, †} | +3,2 (2,9–4,1) |
| Ацетилсалициловая кислота | -2,1 (1,1–2,6) | -13,7 (10,8–16,4) [*] | -10,5 (7,6–12,3) [*] | +10,5 (8,7–13,4) [*] | - |
| Гепарин натрия | - | - | - | - | +20,3 (19,7–21,4) |

Согласно проведённому исследованию оба вида растения рода *Salvia L.* положительно влияют на систему гемостаза, но с различным механизмом действия.

Далее по методике в главе 2, п.2.2.5 проводилась оценка антиоксидантной активности обоих видов *Salvia L.* (таблицы 4.4.6, 4.4.7).

Таблица 4.4.6 – Антиоксидантная активность. Система активных форм кислорода (n=5)

| Объект | Светосумма | Амплитуда медленной вспышки |
|----------------------|-------------|-----------------------------|
| Контроль | 73,22 | 37,92 |
| <i>S.officinalis</i> | 37,73 ±1,50 | 18,71 ±0,44 |
| <i>S.stepposa</i> | 26,03 ±1,30 | 10,18 ±0,51 |

Таблица 4.4.7 – Антиоксидантная активность. Система перекисного окисления липидов.

| Объект | Светосумма | Амплитуда медленной вспышки |
|----------------------|-------------|-----------------------------|
| Контроль | 37,13 | 19,05 |
| <i>S.officinalis</i> | 14,37 ±0,25 | 7,14 ±0,10 |
| <i>S.stepposa</i> | 12,79 ±0,64 | 5,31 ±0,26 |

Согласно полученным результатам настой из листьев *S.stepposa* превосходил настой *S.officinalis* по уровню антиоксидантной активности.

Таким образом, на основании исследования химического состава и биологических свойств, оказалось, что листья *S.officinalis* и листья *S.stepposa* обладают схожим химическим составом фенольных соединений, но отличаются по качественному составу липофильной фракции и фармакологической активности. Проведённые исследования показывают самодостаточность *S.stepposa* как отдельного лекарственного растения, а не как дополнения к *S.officinalis*.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Качественный фитохимический скрининг экстрактов из листьев *S. stepposa* подтвердил наличие разнообразных групп вторичных метаболитов, таких как полифенолы (флавоноиды, дубильные вещества), кумарины, полисахариды, сапонины, а также присутствие аскорбиновой кислоты.
2. С применением хроматографического анализа в тонком слое сорбента выявлены в листьях *S. stepposa* лютеолин-7-глюкозид, рутин, гиперозид, кофейная и хлорогеновая кислоты.
3. Впервые идентифицированы методом ГХ/МС в эфирном масле *S. stepposa* глобулол и ледол.
4. С использованием комплекса современных физико-химических методов анализа, включая высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), хромато-масс-спектрометрию (ГХ-МС) и УФ-спектроскопию, удалось установить компонентный состав биологически активных веществ листьев *S. stepposa* и идентифицировать 27 индивидуальных соединений. В липофильной фракции листьев *S. stepposa* установлено присутствие высших жирных кислот: пальмитиновой, стеариновой и α -линоленовой, а также фитостеринов (бета-ситостерол). Впервые идентифицирована методом ВЭЖХ в спиртовом экстракте *S. stepposa* олеаноловая кислота.
5. Установлено количественное содержание некоторых групп БАВ различных частях *S. stepposa* и определен оптимальный период для сбора листьев *S. stepposa* – период цветения растения.
6. Установлено, что листья *S. officinalis* и листья *S. stepposa* обладают схожим химическим составом флавоноидных соединений, но отличаются по качественному составу липофильной фракции и фармакологической активности. Проведённые исследования показывают самодостаточность *S. stepposa* как отдельного лекарственного растения, а не как дополнения к *S. officinalis*.

ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛИСТЬЕВ *S.STEPPOSA*

5.1. Разработка методики качественного анализа

Для качественного анализа листьев *S.stepposa* были применены хроматографические методы в соответствии с рекомендациями действующей Государственной Фармакопеи, где в качестве основного метода установления подлинности лекарственного растительного сырья регламентировано применение анализа в тонком слое сорбента (ТСХ). Описание данных исследований и полученных результатов представлено в главе IV настоящей работы. Для анализа предложена система растворителей, в которой удалось добиться наиболее четкого разделение веществ на адсорбционные зоны и установить преобладающие маркерные соединения *S.stepposa* (рисунок 5.1.1).

Методика качественного ТСХ-анализа листьев S.stepposa

На линию старта пластинки Sorbfil ПТСХ-АФ-А 100x150 мм при помощи капилляра наносят 0,02 мл подготовленного извлечения (глава 5.2.2) и 0,02 мл 0,05% растворов СО лютеолин-7-глюкозида, рутина, гиперозида, кофейной и хрологеновой кислот. Пластинку помещают в насыщенную камеру в системе этилацетат - ЛУК - вода (15:2:2)

Хроматографирование осуществляется восходящим способом. После прохождения растворителя около 10 см, пластинку вынимают и подсушивают. Просматривают полученную хроматограмму в УФ-свете при 365 нм. На хроматограмме обнаруживаются не менее 9 основных зон, 5 из которых соответствуют по уровню расположения пятен и окраске стандартным образцам: хрологеновой кислоты, кофейной кислоты, гиперозида, рутина и лютеолин-7-глюкозида. Далее следует обработка хроматограммы 1% спиртовым раствором алюминия хлорида с последующим видимым изменением или усилением окраски

полученных адсорбционных зон. Обнаружение дополнительных зон адсорбции допустимо (таблица 5.1.1. и рисунок 5.1.1.).

Примечание:

1. Подготовка пластинок. Пластинки вырезают размером 10×10 см, наносят линию старта на расстоянии 1 см от края и перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100-105°C в течение 1 часа.

2. Приготовление системы растворителей для хроматографирования. Для проведения ТСХ-анализа рекомендуется система растворителей: этилацетат-ЛУК-вода (15:2:2). Система используется свежеприготовленная. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей не менее 1 часа.

3. Приготовление растворов сравнения.

Раствор СО лютеолин-7-гликозида: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца лютеолин-7-глюкозида, предварительно высушенного при температуре 130-140°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

Раствор СО рутина: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135 °C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

Раствор СО гиперозида: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135 °C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

Раствор СО хлорогеновой кислоты: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца хлорогеновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе

вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

Раствор СО кофейной кислоты: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца кофейной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

4. Приготовление проявляющего раствора (1% спиртового алюминия хлорида): около 1,92 г (точная навеска) алюминия хлорида $6(\text{H}_2\text{O})$, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

Таблица 5.1.1 - Результаты хроматографического исследования в тонком слое сорбента листьев *S. stepposa* в системе этилацетат-ЛУК-вода (15:2:2)

| № | Цвет пятен до обработки | Цвет пятен после обработки раствором алюминия хлорида | R _f | R _{st} | Вещество |
|---|-------------------------|---|----------------|-----------------|----------------------|
| 1 | Желтый | Желто-зеленый | 0,35 | 0,53 | Вещество 1 |
| 2 | Голубой | Сине-голубой | 0,44 | 0,66 | Хлорогеновая кислота |
| 3 | Зеленый | Желтый | 0,51 | 0,77 | Рутин |
| 4 | Зеленый | Бирюзовый | 0,54 | 0,81 | Вещество 4 |
| 5 | Коричнево-зеленый | Зеленый | 0,62 | 0,93 | Гиперозид |
| 6 | Желто-зеленый | Зеленый | 0,66 | 1,0 | Лютеолин-7-глюкозид |
| 7 | Голубой | Голубой | 0,68 | 1,03 | Вещество 7 |
| 8 | Фиолетовый | Фиолетовый | 0,75 | 1,13 | Вещество 8 |

| | | | | | |
|---|---------|----------------|------|------|------------------|
| 9 | Голубой | Светло-голубой | 0,87 | 1,31 | Кофейная кислота |
|---|---------|----------------|------|------|------------------|

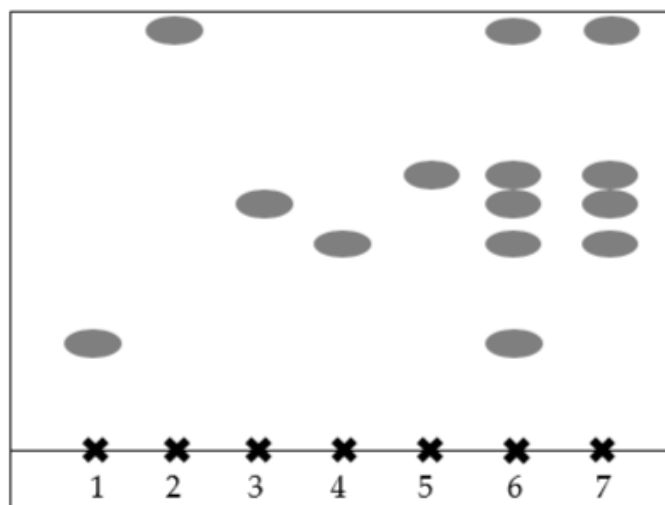


Рисунок 5.1.1 – Схема хроматограммы в системе этилацетат - ЛУК - вода (15:2:2) (1 –хлорогеновая кислота, 2 –кофейная кислота, 3 – гиперозид, 4 – рутин, 5 – лютеолин-7-глюкозид, 6 – экстракт листьев *S. stepposa*, 7 – экстракт травы *S. stepposa*)

5.2. Разработка методики количественного анализа

5.2.1. Выбор метода количественного определения

Для разработки методики количественного определения был измерен УФ-спектр спиртового извлечения листьев *S. stepposa*. В нем наблюдались основные полосы поглощения (максимумы поглощения при длинах волн 328 нм и 282 нм, минимумы при 303 нм и 260 нм) (рисунок 5.2.1.1).

После добавления спиртового раствора хлорида алюминия в УФ-спектре возникает батохромное смещение полос поглощения – данный процесс подтверждает присутствие флавоноидов в экстракте. Максимум поглощения сдвигается в видимую область спектра и величина его в видимой области света

составляет 394 нм (рисунок 5.2.1.2), что релевантно стандарту лютеолин-7-глюкозида 394±2 нм.

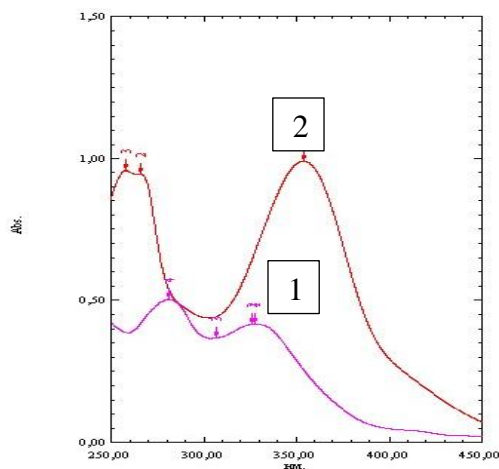


Рисунок 5.2.1.1 – УФ-спектры (1 – экстракт листьев *S. stepposa*, 2 – СО лютеолин-7-глюкозида)

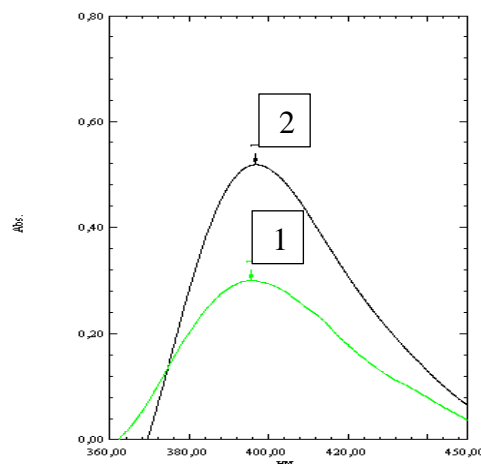


Рисунок 5.2.1.2 – Дифференциальные УФ-спектры (1 – экстракт листьев *S. stepposa*, 2 – СО лютеолин-7-глюкозида)

5.2.2. Выбор условий экстракции

Для выбора оптимального экстрагента были получены извлечения из листьев *S. stepposa* с использованием этилового спирта различных концентраций - 40, 50, 60, 70, 80, 96%. Наибольший выход флавоноидов наблюдался при использовании 60% этилового спирта (таблица 5.2.2.1).

Для определения оптимальной концентрации и количества комплексообразователя экстракты подвергались воздействию 1, 2, 3, 4, 5% (таблица 5.2.2.2) алюминия хлорида в количестве 1, 2, 3, 4, 5 мл (таблица 5.2.2.3). Максимальная оптическая плотность наблюдалась при использовании 1% спиртового раствора алюминия хлорида (III) в количестве 5 мл.

При определении временного интервала комплексообразования максимальная оптическая плотность наблюдалась через 30 минут с начала реакции. Комплекс оставался стабильным не менее 30 минут (таблица 5.2.2.4).

Для определения оптимальной измельченности сырья содержание флавоноидов определяли в извлечениях из листьев *S. stepposa*, измельченных до размера 1, 2, 3, 4 и 5 мм. Установлено, что максимально извлекаются флавоноиды при использовании сырья размером 1-2 мм (таблица 5.2.2.5).

Далее исследовали различное соотношение сырья и экстрагента, а именно – 1:50, 1:100 и 1:200. Максимальный выход флавоноидов наблюдался при соотношении сырья и экстрагента 1:200 (таблица 5.2.2.6).

Далее было проверено влияние кратности экстракции при использовании данного соотношения. По результатам одно-, двух- и трёхкратной экстракции пришли к выводу, что кратность экстракции не влияет на выход флавоноидов, и однократная экстракция является достаточной для максимального извлечения целевой группы компонентов (таблица 5.2.2.7).

Таблица 5.2.2.1 – Влияние концентрации спирта на количественное содержание флавоноидов в листьях *S. stepposa* (n=5)

| Спирт этиловый, % | Содержание флавоноидов, % |
|-------------------|---------------------------|
| 40% | 1,55 ±0,02 |
| 50% | 1,74 ±0,06 |
| 60% | 1,80 ±0,04 |
| 70% | 1,38 ±0,07 |
| 80% | 1,58 ±0,08 |
| 96% | 1,06 ±0,05 |

Таблица 5.2.2.2 – Влияние концентрации алюминия хлорида на содержание флавоноидов (n=5)

| Концентрация AlCl ₃ | Содержание флавоноидов, % |
|--------------------------------|---------------------------|
| 1% AlCl₃ | 2,15 ±0,03 |
| 2% AlCl ₃ | 1,95 ±0,04 |
| 3% AlCl ₃ | 1,95 ±0,03 |
| 4% AlCl ₃ | 2,09 ±0,07 |
| 5% AlCl ₃ | 2,14 ±0,01 |

Таблица 5.2.2.3 – Влияние количества алюминия хлорида на содержание флавоноидов (n=5)

| Количество AlCl ₃ 1 % | Содержание флавоноидов, % |
|----------------------------------|---------------------------|
| 1 мл AlCl ₃ | 1,91 ±0,05 |
| 2 мл AlCl ₃ | 1,95 ±0,03 |
| 3 мл AlCl ₃ | 2,02 ±0,07 |
| 4 мл AlCl ₃ | 2,09 ±0,06 |
| 5 мл AlCl₃ | 2,15 ±0,03 |

Таблица 5.2.2.4 – Влияние времени экстракции на содержание флавоноидов (n=5)

| Время, мин. | Содержание флавоноидов, % |
|----------------|---------------------------|
| 10 мин. | 1,18 ±0,02 |
| 15 мин. | 1,34 ±0,07 |
| 30 мин. | 1,84 ±0,01 |
| 45 мин. | 1,83 ±0,03 |
| 60 мин. | 1,84 ±0,03 |

Таблица 5.2.2.5 – Влияние измельченности сырья на содержание флавоноидов (n=5)

| Измельченность сырья | Содержание флавоноидов, % |
|----------------------|---------------------------|
| 1 мм | 2,19 ±0,09 |
| 2 мм | 2,19 ±0,08 |
| 3 мм | 2,16 ±0,05 |
| 4 мм | 2,04 ±0,05 |
| 5 мм | 2,01 ±0,09 |

Таблица 5.2.2.6 – Влияние соотношения сырья и экстрагента на содержание флавоноидов (n=5)

| Соотношение сырья и экстрагента | Содержание флавоноидов, % |
|---------------------------------|---------------------------|
| 1:50 | 1,16 ±0,05 |
| 1:100 | 1,38 ±0,01 |
| 1:200 | 1,51 ±0,07 |

Таблица 5.2.2.7 – Влияние кратность экстракции сырья и экстрагента на содержание флавоноидов (n=5)

| Условия экстракции | Содержание флавоноидов, % |
|--------------------|---------------------------|
| 1-кратная | 2,04 ±0,03 |
| 2-кратная | 2,03 ±0,03 |
| 3-кратная | 2,04 ±0,02 |

На основании проведенного исследования разработана следующая методика количественного определения флавоноидов в листьях *S. stepposa*: 1.0 г (точная навеска) сырья, измельченного до 2 мм, помещают в колбу на 500 мл, прибавляют 200 мл 60 % этилового спирта, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане 30 минут. Затем извлечение фильтруют и доводят в мерной колбе до 200 мл этиловым спиртом концентрации 60% (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2 мл раствора А, прибавляют 5 мл 1% спиртового раствора хлорида алюминия, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты и доводят раствор до метки 60% этиловым спиртом (раствор В). Оптическую плотность полученного раствора измеряют через 30 минут на спектрофотометре при длине волны 394 нм в кювете толщиной слоя 1 см. Раствором сравнения служит следующий раствор: 2 мл раствора А, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты и доведенный 60% этиловым спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов (X) в пересчете на лютеолин-7-глюкозид и абсолютно сухое сырье (в %) вычисляют по формуле 5.2.2.1:

$$X = \frac{A*200*25*100*100*0,05*1}{A_0*m*2*(100-W)*100*25}, \quad (5.2.2.1)$$

где

A – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

A₀ – оптическая плотность раствора Б СО лютеолин-7-глюкозида;

m – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид также можно вычислить с использованием удельного показателя поглощения комплекса лютеолин-7-глюкозид с алюминия хлоридом по формуле 5.2.2.2:

$$X = \frac{A \cdot 200 \cdot 100 \cdot 25}{E \cdot m \cdot 2 \cdot (100 - W)}, \quad (5.2.2.2)$$

где

A – оптическая плотность исследуемого раствора (раствор В);

E – удельный показатель поглощения лютеолин-7-глюкозид с хлоридом алюминия, равный 400;

m – навеска сырья, г;

W – потеря в массе сырья при высушивании, %.

Приготовление комплексообразующего раствора (1% спиртового алюминия хлорида): около 1,92 г (точная навеска) алюминия хлорида 6(H₂O), растворяют в 85 мл 60% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

5.2.3. Валидация методики количественного определения

Валидация методики количественного определения действующих веществ в растительном сырье — это важнейший этап обеспечения качества и надежности аналитической процедуры. Валидация подтверждает, что выбранный метод дает точные и воспроизводимые результаты при определенных условиях. Соблюдение фармакопейных требований относительно валидированности разрабатываемой методики гарантирует соответствие продукции установленным стандартам. Данная процедура подтверждает, что ее результаты могут быть получены с одинаковыми параметрами в разных лабораториях, при выполнении одинаковых условий. Валидация помогает выявить и исключить потенциальные источники ошибок, что повышает надежность анализа. Одними из основных критериев пригодности

разрабатываемой методики являются: линейность, повторяемость, воспроизводимость и правильность [20].

Для определения линейности готовили 5 концентраций флавоноидов (от 60% до 140 %) в пересчете на лютеолин-7-глюкозид от теоретического содержания флавоноидов в листьях *S. stepposa* (таблица 5.2.3.1).

Таблица 5.2.3.1 - Определение линейности

| Содержание, % | Объем аликвоты, мл | Оптическая плотность | Содержание флавоноидов в аликвоте, в пересчете на лютеолин- 7-глюкозид, мг |
|------------------|--------------------------|-------------------------|---|
| 60 | 1,2 | 0,193 | 0,579 |
| 80 | 1,6 | 0,248 | 0,992 |
| 100 | 2,0 | 0,290 | 1,450 |
| 120 | 2,4 | 0,335 | 2,010 |
| 140 | 2,8 | 0,389 | 2,720 |

Для выяснения, является ли методика линейной, необходимо рассчитать коэффициент корреляции. Он является критерием приемлемости линейности методики. Обычно этот коэффициент стремится к 1, и их зависимость можно описать в виде прямой. Поэтому размер данного коэффициента корреляции должен быть не меньше 0,99.

Коэффициент вычисляли по формуле 5.2.3.1:

$$r = \frac{N \cdot XY - \Sigma X \cdot \Sigma Y}{\sqrt{[N \cdot \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2] \cdot [N \cdot \Sigma Y^2 - (\Sigma Y)^2]}} , \quad (5.2.3.1)$$

Полученное в ходе исследования значение коэффициента составило 0,994 - это доказывает линейность разработанной методики (таблица 5.2.3.2, рисунок 5.2.3.1).

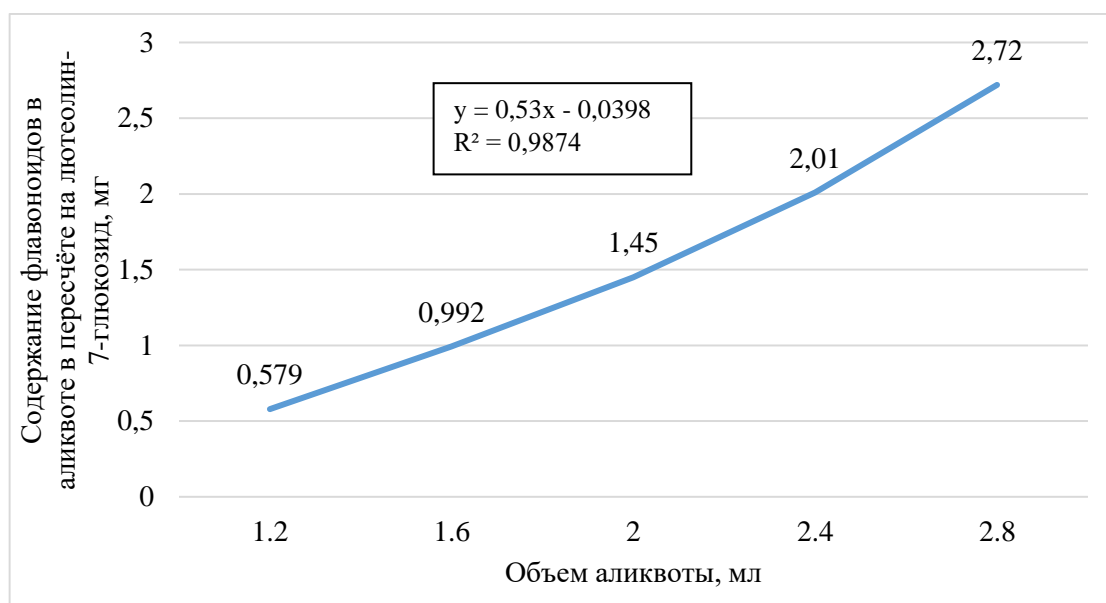


Рисунок 5.2.3.1 - Зависимость оптической плотности от концентрации флавоноидов

Таблица 5.2.3.2 - Данные для вычисления коэффициента корреляции

| N | X | Y | XY | X ² | Y ² |
|-------------------------------|--------|------------------|-------------|--------------------------|---------------------------|
| 1 | 1,2 | 0,579 | 0,694 | 1,44 | 0,335 |
| 2 | 1,6 | 0,992 | 1,587 | 2,56 | 0,984 |
| 3 | 2,0 | 1,450 | 2,900 | 4,00 | 2,102 |
| 4 | 2,4 | 2,010 | 4,824 | 5,76 | 4,040 |
| 5 | 2,8 | 2,720 | 7,616 | 7,84 | 7,398 |
| Σ | Σ X=10 | Σ Y=7,751 | Σ XY=17,621 | Σ X ² =21,600 | Σ Y ² = 14,859 |
| Коэффициент корреляции | | r = 0,994 | | | |

При исследовании следующего критерия - повторяемости, измеряли оптическую плотность 9 аликвот (получали извлечения из 3 образцов сырья в 3 повторениях). Далее рассчитывали относительное стандартное отклонение, значение которого не должно превышать 10%. В нашем случае показатель составил 6,00% (таблица 5.2.3.3).

Таблица 5.2.3.3 - Данные по определению повторяемости методики

| № пробы | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид в листьях <i>S.stepposa</i> , % | | |
|---|---|----------|--|
| 1 | 1,84 | | |
| 2 | 1,90 | | |
| 3 | 1,93 | | |
| 4 | 1,98 | | |
| 5 | 1,99 | | |
| 6 | 2,04 | | |
| 7 | 2,07 | | |
| 8 | 2,15 | | |
| 9 | 2,22 | | |
| Среднее значение | 2,013 | | |
| Относительное стандартное отклонение | 6,0 | % | $E_a=0,13$ $t_{\alpha}=2,31$ $S_x=0,051$ |

Для определения воспроизводимости исследования выполняли два анализа на 3 образцах и использовали 3 повторения измерений каждого образца (таблица 5.2.3.4). Далее рассчитывали относительное стандартное отклонение - показатель приемлемости воспроизводимости методики, который не должен быть выше 15%. В нашем случае показатель находился в пределах от 2,71% до 3,42%. Полученные данные свидетельствует о прецизионности методики в условиях воспроизводимости.

Таблица 5.2.3.4 - Данные по определению воспроизводимости методики

| Повторность | Аналитик | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид в листьях <i>S.stepposa</i> , % | | |
|---|----------|---|---|---|
| | | Образец 1 | Образец 2 | Образец 3 |
| 1 | 1 | 2,05 | 1,89 | 2,13 |
| 2 | 1 | 2,11 | 1,99 | 2,10 |
| 3 | 1 | 1,99 | 1,95 | 2,22 |
| 4 | 2 | 2,09 | 1,99 | 2,19 |
| 5 | 2 | 2,12 | 1,80 | 2,08 |
| 6 | 2 | 2,00 | 1,92 | 2,27 |
| Среднее значение | | 2,06 | 1,92 | 2,17 |
| Относительное стандартное отклонение (RSD), % | | 2,71 | 3,74 | 3,42 |
| | | $E_{\%}= 2,71$ $E_a=0,06$ $t_{\alpha}=2,57$ $S_x=0,02$ | $E_{\%}= 3,74$ $E_a=0,07$ $t_{\alpha}=2,57$ $S_x=0,03$ | $E_{\%}= 3,42$ $E_a=0,07$ $t_{\alpha}=2,57$ $S_x=0,03$ |

Следующий критерий - правильность определяли в экстрактах, полученных с добавлением к ним известного количества стандартного образца. В данном исследовании образцом служит стандартный образец лютеолин-7-глюкозида. Далее рассчитывали ожидаемую и фактически полученную концентрацию флавоноидов в листьях *S.stepposa*. Затем рассчитывали отклонение, величина которого не должна была превышать 5%. Экспериментальная величина погрешности находилась в пределах от 100,80% до 101,63% (таблица 5.2.3.5), что свидетельствовало о прецизионности методики в условиях правильности.

Таблица 5.2.3.5 - Определение правильности методики

| Объем экстракта в аликвоте, мл | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид в аликвоте, мг | Добавлено СО лютеолин-7-глюкозида, мг | Ожидаемое содержание, мг | Полученное содержание, мг | Ошибка, % |
|--------------------------------|--|---------------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------|
| 1 | 0,515 | 0,635 | 1,150 | 1,169 | 0,02 (1,63%) |
| 1,5 | 0,883 | | 1,518 | 1,533 | 0,01 (0,99%) |
| 2 | 1,395 | | 2,030 | 2,046 | 0,02 (0,80%) |

Таким образом, на основании проведенных исследований разработана и валидирована методика количественного определения флавоноидов в листьях *S.stepposa*. Определены оптимальные условия экстрагирования, а именно: измельченность сырья – 2,0 мм, концентрация этилового спирта 60%, соотношение сырья и экстрагента 1:200, концентрации $AlCl_3$ - 1%, объем 1% $AlCl_3$ – 5 мл, время комплексообразования - 30 минут, кратность экстракции - однократная. Согласно разработанной методике было проверено содержание флавоноидов в различных сериях сырья, заготовленных в 2022-2024 гг (таблица 5.2.3.6.). Согласно полученным данным, граничный показатель содержания флавоноидов для включения в проект НД рекомендуется не менее 1,5 %.

Таблица 5.2.3.6 – Количественное определение флавоноидов в *S. stepposa* по разработанной методике (n=8)

| Числовой показатель | Листья <i>S. stepposa</i> 2022 (период цветения) | Листья <i>S. stepposa</i> 2023 (период цветения) | Листья <i>S. stepposa</i> 2024 (период цветения) | Рекомендуемый показатель для включения в проект ФС |
|---------------------|--|---|---|--|
| Флавоноиды | 2,09 ±0,10 E _% =4,78 E _a =0,10 t _α =2,37 S _x =0,04 | 1,99±0,08 E _% =4,02 E _a =0,08 t _α =2,37 S _x =0,03 | 2,01±0,04 E _% =1,99 E _a =0,04 t _α =2,37 S _x =0,02 | Не менее 1,5% |

Разработанная методика прошла проверку на пригодность: линейность (коэффициент корреляции составил 0,994), повторяемость (относительное стандартное отклонение - 6%), воспроизводимость (относительное стандартное отклонение в пределах - 2,71%-3,42%) и правильность (величина погрешности в пределах 0,80%-1,63%), на основании чего можно сделать вывод, что данная методика является прецизионной.

5.3. Определение числовых показателей и сроков годности

Для установления критериев качества листьев *S. stepposa* в нескольких сериях были исследованы товароведческие показатели сырья согласно методикам ГФ XV (таблица 5.3.1, 5.3.2) [13].

Таблица 5.3.1 – Определение числовых показателей *S. stepposa* (n=5)

| Числовой показатель | Листья <i>S. stepposa</i> 2022 | Листья <i>S. stepposa</i> 2023 | Листья <i>S. stepposa</i> 2024 | Рекомендуемый показатель для включения в проект ФС |
|--|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--|
| Измельченность цельного сырья – проходящие через сито 2 мм | 4,5 ±0,5 | 3,9±0,4 | 4,1±0,5 | Не более 5% |

| | | | | |
|---|-------------|------------|------------|--------------|
| Измельченность измельченного сырья - не проходящие сквозь сито 5 мм - проходящие сквозь сито 0,5 мм | 0,01 ±0,001 | 0,02±0,001 | 0,01±0,001 | Не более 3% |
| | 4,22 ±0,21 | 3,7 ±0,20 | 3,5 ±0,11 | Не более 5% |
| Измельченность для порошка - частиц, не проходящих сквозь сито 2 мм - частиц, не проходящих сквозь сито 0,18 | 3,87 ±0,11 | 3,09 ±0,11 | 3,87 ±0,05 | Не более 5% |
| | 3,50±0,12 | 3,69±0,13 | 3,51±0,17 | Не более 5% |
| Части листьев потемневшие, изменившие окраску | 3,45 ±0,14 | 4,1 ±0,15 | 3,55 ±0,18 | Не более 5% |
| Органическая примесь | 2,87±0,03 | 2,5±0,05 | 2,1±0,06 | Не более 3% |
| Минеральная примесь | 1,51±0,06 | 1,22±0,04 | 1,09±0,01 | Не более 2% |
| Влажность | 6,47 ±0,15 | 3,56±0,20 | 3,75±0,23 | Не более 10% |
| Зола общая | 6,85 ±0,15 | 6,95 ±0,59 | 6,37 ±0,87 | Не более 10% |
| Зола не растворимая в 10% растворе хлороводородной кислоты | 4,55±0,22 | 3,91±0,15 | 4,05±0,17 | Не более 5% |

Также в качестве показателей качества рассматривали содержание дубильных веществ и экстрактивных веществ, извлекаемых по методике, описанной в главе 2, п. 2.2.3.2. (таблица 5.3.2). Это связано, во-первых, с тем, что ФС «Шалфея лекарственного листа» также предлагает стандартизировать сырье не только по содержанию эфирного масла, но и по данным критериям. Во-вторых, дубильные вещества содержатся в исследуемом виде в достаточно высокой

концентрации (таблица 5.3.2) и также могут вносить свой вклад в противовоспалительные свойства листьев *S. stepposa*.

Таблица 5.3.2 – Количественное определение дубильных веществ *S. stepposa* (n=8)

| Числовой показатель | Листья <i>S. stepposa</i> 2022 (период цветения) | Листья <i>S. stepposa</i> 2023 (период цветения) | Листья <i>S. stepposa</i> 2024 (период цветения) | Рекомендуемый показатель для включения в проект ФС |
|------------------------|--|--|---|--|
| Дубильные вещества | 9,15 ±0,32 E _% =3,49 E _a =0,32 t _α =2,37 S _x =0,14 | 9,09±0,41 E _% =4,51 E _a =0,41 t _α =2,37 S _x =0,17 | 9,10±0,29 E _% =3,18 E _a =0,29 t _α =2,37 S _x =0,12 | Не менее 8% |
| Экстрактивные вещества | 41,01±1,5 E _% =3,65 E _a =1,5 t _α =2,37 S _x =0,63 | 42,01±2,05 E _% =4,87 E _a =2,05 t _α =2,37 S _x =0,86 | 40,51±1,2 E _% =2,96 E _a =1,2 t _α =2,37 S _x =0,51 | Не менее 35% |

Таким образом, разработаны следующие числовые показатели сырья *S. stepposa*: содержание флавоноидов – не менее 1,5 %, содержание экстрактивных веществ – не менее 35%, содержание дубильных веществ – не менее 8%, ДЗП – не менее 55%, влажность – не более 10%, золы общей – не более 10%, зола не растворимая в 10% растворе хлороводородной кислоты – не более 5%, измельченность для цельного сырья - частиц, проходящих сквозь сито 2 мм – не более 5 %, измельченность для измельченного сырья - частиц, не проходящих сквозь сито 5 мм - не более 3 %, частиц, проходящих сквозь сито 0,5 мм - не более 5 %, измельченность для порошка - частиц, не проходящих сквозь сито 2 мм – не более 5 %, частиц, не проходящих сквозь сито 0,18 мм – не более 5 %, органической примеси - не более 3 %, частиц, потерявших окраску, почерневших – не более 5 %, органическая примесь - не более 3 %, минеральной примеси - не более 2 %.

Определение сроков годности

Для установления срока годности листьев *S. stepposa* в период с 2022 по 2025 год проводился мониторинг динамики ключевых показателей: влажности сырья, а также содержания флавоноидов и дубильных веществ. Контроль осуществлялся в соответствии с методиками, регламентированными Государственной Фармакопеей РФ XV издания и разработанной нами методикой количественного определения флавоноидов (таблица 5.3.3). Условия хранения образцов соответствовали регламентируемым нормам и требованиям ГФ XV издания [13].

Таблица 5.3.3 - Определение сроков годности листьев *S. stepposa*

| № серии | Год определения показателей качества | Влажность, % | Содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид, % | Содержание ДВ, % |
|---------|--------------------------------------|--------------|--|------------------|
| 1 | Июль, 2022 | 6,47±0,30 | 2,09±0,03 | 9,31±0,16 |
| 2 | Июль, 2022 | 4,39±0,22 | 2,01±0,03 | 9,28±0,22 |
| 3 | Июль, 2022 | 3,77±0,13 | 2,05±0,01 | 9,32±0,25 |
| 1 | Октябрь, 2022 | 3,25±0,14 | 2,01±0,01 | 9,27±0,09 |
| 2 | Октябрь, 2022 | 4,77±0,19 | 2,03±0,01 | 9,28±0,16 |
| 3 | Октябрь, 2022 | 3,76±0,13 | 2,08±0,01 | 9,30±0,22 |
| 1 | Январь, 2023 | 3,52±0,23 | 2,04±0,01 | 9,29±0,21 |
| 2 | Январь, 2023 | 4,10±0,18 | 2,15±0,06 | 9,01±0,15 |
| 3 | Январь, 2023 | 3,13±0,22 | 2,01±0,05 | 9,13±0,18 |
| 1 | Апрель, 2023 | 3,16±0,12 | 1,99±0,05 | 9,03±0,13 |
| 2 | Апрель, 2023 | 4,23±0,19 | 2,02±0,07 | 9,09±0,16 |
| 3 | Апрель, 2023 | 3,23±0,11 | 1,98±0,07 | 9,17±0,11 |
| 1 | Октябрь, 2023 | 3,82±0,26 | 2,01±0,03 | 9,01±0,12 |
| 2 | Октябрь, 2023 | 4,65±0,22 | 2,01±0,08 | 9,15±0,17 |
| 3 | Октябрь, 2023 | 3,56±0,20 | 1,95±0,02 | 9,17±0,15 |
| 1 | Апрель, 2024 | 3,26±0,13 | 1,82±0,07 | 9,17±0,22 |
| 2 | Апрель, 2024 | 4,35±0,21 | 1,98±0,06 | 9,03±0,18 |
| 3 | Апрель, 2024 | 3,85±0,11 | 1,86±0,06 | 9,05±0,40 |
| 1 | Октябрь, 2024 | 3,96±0,26 | 1,89±0,07 | 8,99±0,33 |

| | | | | |
|---|---------------|-----------|-----------|-----------|
| 2 | Октябрь, 2024 | 4,78±0,18 | 1,75±0,01 | 8,93±0,17 |
| 3 | Октябрь, 2024 | 3,75±0,23 | 1,77±0,01 | 8,85±0,39 |
| 1 | Апрель, 2025 | 3,18±0,12 | 1,70±0,03 | 8,82±0,18 |
| 2 | Апрель, 2025 | 4,34±0,19 | 1,85±0,03 | 8,84±0,29 |
| 3 | Апрель, 2025 | 4,34±0,19 | 1,73±0,02 | 8,60±0,21 |
| 1 | Октябрь, 2025 | 3,46±0,13 | 1,77±0,03 | 8,78±0,12 |
| 2 | Октябрь, 2025 | 4,35±0,21 | 1,85±0,06 | 8,70±0,23 |
| 3 | Октябрь, 2025 | 3,85±0,11 | 1,70±0,03 | 8,79±0,12 |

Данные таблицы 5.3.3 свидетельствуют о том, что на протяжении двухгодичного срока хранения количественные характеристики объекта остаются в границах норм качества.

Оценка урожайности

Для оценки возможной заготовки сырья *S.stepposa* от дикорастущих видов было проведено определение средней урожайности, рассчитаны биологический, эксплуатационный запасы и возможный ежегодный объём заготовок сырья *S.stepposa* в некоторых районах Республики Башкортостан. Расчеты запасов проводились согласно методике, приведённой в главе 2, п. 2.2.4. Ход статистического анализа числа модельных экземпляров и количества модельных экземпляров приведён в таблицах 5.3.4, 5.3.5.

Таблица 5.3.4 – Ход статистического анализа среднего числа товарных экземпляров

| Географическое Расположение | N | \hat{y}_1 | $\Sigma (y - \hat{y})^2$ | $S_{\hat{y}}$ | E_{a1} | $E_{отн.}, \%$ |
|--------------------------------|----|-------------|--------------------------|---------------|----------|----------------|
| Уфимский район | 20 | 6,45 | 16,95 | 0,17 | 0,35 | 5,37 |
| Хайбуллинский район | | 5,85 | 10,55 | 0,13 | 0,27 | 4,67 |
| Чишминский район | | 6,05 | 10,95 | 0,14 | 0,28 | 4,60 |
| Белокатайский район | | 4,30 | 6,20 | 0,10 | 0,21 | 4,87 |

Таблица 5.3.5 – Ход статистического анализа средней массы модельного экземпляра

| Географическое Расположение | N | \hat{y}_2 | $\Sigma (y_n - \hat{y}_2)^2$ | $S_{\hat{y}}$ | E_{a2} | $E_{отн. \%}$ |
|--------------------------------|----|-------------|------------------------------|---------------|----------|---------------|
| Уфимский район | 40 | 38,4 | 1927,6 | 0,85 | 1,72 | 4,48 |
| Хайбуллинский район | | 27,4 | 2119,6 | 0,89 | 1,80 | 6,58 |
| Чишминский район | | 36,1 | 2021,6 | 0,87 | 1,76 | 4,88 |
| Белокатайский район | | 26,6 | 863,6 | 0,57 | 1,15 | 4,33 |

Далее проведен расчет урожайности и запасов. На основании полученных данных составлена сводная инвентаризационная ведомость (таблица 5.3.6)

Таблица 5.3.6 – Инвентаризационная ведомость по расчётам запасов сырья - листьев *S. stepposa*

| Географическое положение | Кол-во учетных площадок | Площадь заросли (м ²) | Урожайность (г/м ²) | Запас сырья (кг) | | |
|-----------------------------|-------------------------------|---|------------------------------------|------------------|---------------|---------------|
| | | | | БЗ | ЭЗ | ВОЕЗ |
| Уфимский район | 10 | 10 000 | 247,68 ±17,31 | 730,29 | 37,71 | 18,86 |
| Хайбуллинский район | | 8 000 | 160,29 ±12,93 | 426,15 | 12,25 | 6,13 |
| Чишминский район | | 15 000 | 218,41 ±14,64 | 784,65 | 81,75 | 40,88 |
| Белокатайский район | | 6 000 | 114,38 ±7,45 | 249,02 | 70,18 | 35,09 |
| Итого | | | | 2 190,11 | 201,89 | 100,95 |

Согласно проведённым расчётам суммарный биологический запас сырья по четырём районам Республики Башкортостан составит 2190,11 ±0,16 кг, эксплуатационный запас 201,89 ± 0,13 кг и возможный объем ежегодных заготовок составит 100,95 ± 0,05 кг.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Для качественного анализа листьев *S. stepposa* была разработана методика в системе ТСХ: этилацетат-ЛУК-вода (15:2:2) с использованием стандартных образцов - лютеолин-7-глюкозида, рутина, гиперозида, кофейной кислоты и хлорогеновой кислоты.
2. Для количественного определения флавоноидов в листьях *S. stepposa* была разработана спектрофотометрическая методика с комплексообразующей добавкой в пересчете на лютеолин-7-глюкозид. Содержание флавоноидов рекомендуется не менее 1,5%. Проведена валидация разработанной методики.
3. Разработаны числовые показатели для включения в проект НД: содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид - не менее 1,5 %, содержание дубильных веществ – не менее 8%, содержание экстрактивных веществ – не менее 35%, ДЗП - не менее 55 %, влажность - не более 10 %, золы общей - не более 10 %, зола не растворимая в 10% растворе хлороводородной кислоты – не более 5%, измельченность для цельного сырья - частиц, проходящих сквозь сито 2 мм – не более 5 %, измельченность для измельченного сырья - частиц, не проходящих сквозь сито 5 мм - не более 3 %, частиц, проходящих сквозь сито 0,5 мм - не более 5 %, измельченность для порошка - частиц, не проходящих сквозь сито 2 мм – не более 5 %, частиц, не проходящих сквозь сито 0,18 мм – не более 5 %, органической примеси - не более 3 %, частиц, потерявших окраску, почерневших – не более 5 %, органическая примесь - не более 3 %, минеральной примеси - не более 2 %,
4. Установлены сроки годности листьев *S. stepposa* - 2 года.
5. Определены биологический, эксплуатационный запасы, а также возможный объем ежегодных заготовок листьев *S. stepposa*. Суммарный биологический запас сырья по четырём районам Республики Башкортостан составит $2190,11 \pm 0,16$ кг, эксплуатационный запас $201,89 \pm 0,13$ кг и возможный объем ежегодных заготовок составит $100,95 \pm 0,05$ кг.

ГЛАВА 6. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ *S.STEPPOSA*

6.1. Исследование антиоксидантной активности

Проведено исследование антиоксидантной активности листьев *S.stepposa* согласно гл.2, п.2.2.5. на двух моделях (таблица 6.1.1, 6.1.2.).

Таблица 6.1.1 – Антиоксидантная активность. Система активных форм кислорода

| Объект | Объем, мл | Светосумма | % контроля | Амплитуда медленной вспышки | % контроля |
|--------------------------|-----------|------------|------------|-----------------------------|------------|
| Контроль | - | 73,22 | 100 | 37,92 | 100 |
| <i>S.stepposa</i> листья | 0,1 | 26,03±1,30 | 64,4 | 10,18±0,51 | 73,2 |
| Аскорбиновая к-та | 0,1 | 39,7±1,98 | 45,8 | 20,71±1,03 | 45,4 |
| <i>S.stepposa</i> листья | 0,5 | 23,53±1,17 | 67,9 | 9,29±0,46 | 75,5 |
| Аскорбиновая к-та | 0,5 | 20,56±1,02 | 71,9 | 8,23±0,41 | 78,3 |

Согласно полученным данным, в модели АФК (таблица 6.1.1) настой из листьев *S.stepposa* снижал светосумму свечения и амплитуду медленной вспышки, а именно:

- в дозе 0,1 мл – от 48,5% до 64,4% и от 50,7% до 73,2% соответственно, что превосходило показатели активности препарата сравнения - 0,05% раствора аскорбиновой кислоты (45,4% и 45,8%);
- в дозе 0,5 мл – от 66,7% до 67,9% и от 74,7% до 75,5% соответственно, что не уступало по активности препарату сравнения – 0,05% раствору аскорбиновой кислоты (78,3% и 71,9%).

Таблица 6.1.2 – Антиоксидантная активность. Система перекисного окисления липидов

| Объект | Конц-я, мл | Светосумма | % контроля | Амплитуда медленной вспышки | % контроля |
|---------------------------|------------|------------|------------|-----------------------------|------------|
| Контроль | - | 37,13 | 100 | 19,05 | 100 |
| <i>S. stepposa</i> листья | 0,1 | 12,79±0,64 | 65,6 | 5,31±0,26 | 72,1 |
| Аскорбиновая к-та | 0,1 | 21,21±1,06 | 42,9 | 10,19±0,51 | 46,5 |
| <i>S. stepposa</i> листья | 0,5 | 10,24±0,51 | 72,4 | 4,29±0,21 | 77,5 |
| Аскорбиновая к-та | 0,5 | 14,45±0,72 | 61,1 | 6,39±0,32 | 66,5 |

В модели ПОЛ (таблица 6.1.2) настой листьев *S. stepposa* также снижал светосумму свечения и амплитуду медленной вспышки, а именно:

- в дозе 0,1 мл – от 61,3% до 65,6% и от 62,5% до 72,1% соответственно, что превосходило показатели активности препарата сравнения – 0,05% раствора аскорбиновой кислоты (42,9% и 46,5%);
- в дозе 0,5 мл – от 75,5% до 72,4% и от 75,3% до 77,5% соответственно, что также превосходило показатели активности препарата сравнения – 0,05% раствора аскорбиновой кислоты (61,1% и 66,5%).

Таким образом, листья *S. stepposa* обладают антиоксидантной активностью, снижая концентрацию АФК и скорость ПОЛ. Причем показатели антиоксидантной активности листьев *S. stepposa* превышали те же показатели препарата сравнения – 0,05% раствора аскорбиновой кислоты.

6.2. Изучение влияния на систему гемостаза

Показатели антикоагулянтной и антиагрегационной активности листьев *S. stepposa* и препаратов сравнения представлены в таблице 6.2.1.

Таблица 6.2.1 – Влияние настоя листьев *S. stepposa* на показатели агрегации тромбоцитов и коагуляционное звено гемостаза, Ме (0,25–0,75)

| Объект | Латентный период, % к контролю | Максимальная амплитуда, % к контролю | Скорость агрегации, % к контролю | Время достижения МА, % к контролю | АПТВ, % к контролю |
|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| Листья <i>S. stepposa</i> | -2,1 (1,8–3,4) ^{††} | - 3,2 (2,5–4,8) ^{††, #} | -4,5 (3,3–5,1) ^{††, #} | -2,7 (1,5–4,1) ^{††, ##} | +8,5 (6,7–10,3) |
| Ацетилсалициловая кислота | -2,1 (1,1–2,6) | -13,7 (10,8–16,4)* | -10,5 (7,6–12,3)* | +10,5 (8,7–13,4)* | - |
| Гепарин натрия | - | - | - | - | +20,3 (19,7–21,4) |

Примечание: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.001$ - в сравнении с контролем; # $p \leq 0.05$, ## $p \leq 0.001$ - в сравнении с ацетилсалициловой кислотой; § $p \leq 0.05$ - в сравнении с гепарином натрия. $n=6$.

О воздействии на процесс агрегации эритроцитов судили по влиянию на латентный период, максимальную амплитуду агрегации, скорость агрегации и время достижения максимальной амплитуды (таблица 6.2.1). Согласно полученным данным, настой листьев *S. stepposa* показал слабые антиагрегационные свойства. Анализируя влияние на коагуляционное звено, установлено, что настой листьев *S. stepposa* уступает по активности гепарину натрия, тем не менее, обладает выраженными антикоагулянтными свойствами.

6.3. Исследование противовоспалительной активности

Противовоспалительную активность листьев *S. stepposa* исследовали на белых беспородных мышах согласно методике в главе 2, п.2.2.4. (таблица 6.3.1).

Таблица 6.3.1 – Противовоспалительная активность настоя *S. stepposa*, Ме (25–75).

| № | Препарат | Время после инициации отека | | |
|---|--|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| | | 0ч | 4ч | 24ч |
| 1 | Контроль, мм | 3,2 (2,9–3,4) | 4,5 (4,3–4,7) ^a | 3,8 (3,7–4,1) ^{a, β} |
| 2 | Настой листьев <i>S. stepposa</i> , мм | 3,1 (2,7–3,2) | 3,9 (3,7–4,0)*, ^a | 3,4 (3,1–3,5)*, ^β |
| 3 | Диклофенак натрия, мм | 3,0 (2,7–3,2) | 3,5 (3,3–3,9)*, ^a | 3,2 (2,9–3,6)* |

Приведены медиана и межквартильный интервал по результатам 10 измерений. * $p < 0,05$ - в сравнении с контролем по соответствующему времени; ^a $p < 0.05$ – 0ч vs 4ч и 24ч; ; ^β $p < 0.05$ – 4ч vs 24ч. $n=20$

Согласно полученным данным, установлен противовоспалительный эффект настоя листьев *S. stepposa* на уровне препарата сравнения.

6.4. Исследование острой токсичности

Острую токсичность настоя листьев *S. stepposa* исследовали на белых беспородных мышах согласно методике в главе 2, п.2.2.4. При наблюдении за мышами после введения настоя листьев *S. stepposa* в последующие дни после введения вещества изменений в поведении не отмечено. Мыши активно передвигались в клетке, реагировали на звуковые и тактильные раздражители. Отсроченной гибели не зарегистрировано (таблица 6.4.1). Различий в эффекте в зависимости от пола не наблюдалось.

Таблица 6.4.1 – Показатели острой токсичности листьев *S. stepposa*

| Доза, мг/кг | Группа | Пол, n=10 | Наблюдаемый эффект (смертность) (%) |
|-------------|--------|-----------|-------------------------------------|
| 1000 | Настой | М | 0 |
| | | Ж | 0 |
| 3000 | Настой | М | 0 |
| | | Ж | 0 |
| 5000 | Настой | М | 0 |
| | | Ж | 0 |

Принимая во внимание факт отсутствия гибели животных в дозе 5000 мг/кг, настой листьев *S. stepposa* согласно ГОСТ 12.1.007-76 может быть отнесен к 4 классу опасности (малоопасные вещества).

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. Установлена антиоксидантная активность листьев *S. stepposa* на моделях с образованием АФК и ПОЛ.
2. Установлено, что листья *S. stepposa* обладают антикоагулянтной активностью и слабой антиагрегационной активностью.
3. Установлено, что листья *S. stepposa* обладают противовоспалительной активностью на уровне препарата сравнения – диклофенака натрия.
4. Установлено, что листья *S. stepposa* относятся к IV классу опасности – малотоксичные соединения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно обобщению литературных данных и проведенных экспериментальных исследований, в диссертационной работе обоснована возможность внедрения в медицинскую практику нового вида сырья «Шалфея степного листа» в качестве антиоксидантного, противовоспалительного и антикоагулянтного средства.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. В результате проведенного исследования листьев *S. stepposa* на анатомо-морфологическом уровне уточнены морфологические особенности листа и черешка листа *S. stepposa* и выделены ключевые диагностические анатомические признаки листьев *S. stepposa*: диацидный устьичный комплекс, эфиромасличные железки, 2 типа простых волосков и 2 типа головчатых волосков, которые использованы для разработки нормативного показателя ДЗП для стандартизации листьев *S. stepposa*, согласно которому совокупность указанных признаков должна встречаться с частотой от 55%.

2. На основании фитохимического исследования листьев *S. stepposa* идентифицировано 27 соединений, в том числе впервые: гиперозид, олеаноловая, пальмитиновая, стеариновая и α -линоленовая кислоты. В эфирном масле *S. stepposa* впервые определены глобулол и ледол. В липофильной фракции цветков *S. stepposa* впервые обнаружены β -амирин, β -амирон, лупеол, эруковая кислота и γ -ситостерол. Произведен количественный расчет содержания флавоноидов, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты, эфирного масла, экстрактивных веществ и микроэлементов.

3. На основании сопоставления химического состава и биологических свойств листьев *S. stepposa* и *S. officinalis* у растений выявлено наличие схожих

фенольных соединений, а также качественные отличия в липофильной фракции и фармакологической активности.

4. Количественные показатели динамики накопления основных групп биологически активных веществ определили оптимальный вид сырья - листья *S. stepposa* и срок их заготовки - период массового цветения.

5. Для качественной и количественной стандартизации листьев *S. stepposa* разработаны: методика качественного анализа в тонком слое сорбента с применением СО – лютеолин-7-глюкозида, рутина, гиперозида, хлорогеновой и кофейной кислот; методика для количественной оценки содержания флавоноидов при помощи УФ-спектрофотометрии с добавлением комплексообразователя в пересчете на лютеолин-7-глюкозид и доказана ее валидность. Содержание флавоноидов варьирует 1,80-2,27%.

6. Определены запасы сырья *S. stepposa*: биологический запас - 2190,11 ±0,16 кг, эксплуатационный запас - 201,89 ±0,13 кг, а также возможный объем ежегодных заготовок - 100,95 ±0,05 кг.

7. В результате определения острой токсичности листьев *S. stepposa* отнесены к малотоксичным веществам и установлены их некоторые фармакологические свойства: антиоксидантные, противовоспалительные и антикоагулянтные.

8. Установлены числовые показатели листьев *S. stepposa*: содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид - не менее 1,5 %, содержание дубильных веществ – не менее 8%, содержание экстрактивных веществ – не менее 35%, ДЗП - не менее 55 %, влажность - не более 10 %, золы общей - не более 10 %, зола не растворимая в 10% растворе хлороводородной кислоты – не более 5%, органическая примесь - не более 3 %, минеральной примеси - не более 2 %, и разработан проект ФС на новый вид ЛРС - «Шалфея степного листа».

Рекомендации

Данные диссертационные исследования могут быть использованы для последующей разработки новых эффективных галеновых или новогаленовых растительных препаратов на основе листьев *S. stepposa* для медицинского применения, как в России, так и за рубежом. Разработанные методики качественного и количественного определения БАВ могут применяться, как в образовательном процессе при освоении специальной дисциплины «Фармакогнозия» специальности Фармация, так и в лабораторном анализе.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Перспективы дальнейшего развития и разработки темы проведенных исследований включают в себя следующие направления, имеющие теоретическую и практическую значимость: введение в отечественную медицину нового вида сырья – листья *S. stepposa*; дальнейший углубленный анализ фармакологической активности данного вида, проведение доклинических и клинических испытаний разработанных в будущем препаратов на его основе, а также дальнейшее исследование травы *S. stepposa* как перспективного источника лекарственного растительного сырья.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ - аденозиндифосфат

АК – аминокислоты

АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время

АФК - активные формы кислорода

БАВ - биологически активные вещества

ВЭТСХ - высокоэффективная тонкослойная хроматография

ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография

ВЭЖХ/МС - высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией

ГФ - Государственная фармакопея

ГХ - газовая хроматография

ГХ/МС - газовая хроматография с масс-спектрометрией

ДЗП - диагностически значимые признаки

ЖАК - железоаммониевые квасцы

ЛРС - лекарственное растительное сырье

ЛУК - ледяная уксусная кислота

НД - нормативная документация

ПВ - протромбиновое время

ПОЛ - перекисное окисление липидов

СО - стандартный образец

ТСХ - тонкослойная хроматография

УФ - ультрафиолетовый

ФС - фармакопейная статья

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанян, А.А. Гипогликемическая и гиполипидемическая активность экстракта листьев *Salvia officinalis* L./ А.А. Агаджанян // Евразийский союз ученых. - 2015. - С. 5-8.
2. Азарова, О.В. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия / О.В. Азарова, Л.П. Галактионова // Химия растительного сырья. – 2012. – №4. – С. 61-78.
3. Айдоган, М.Ф. Исследования по композиции эфирного масла и антимикробному эффекту растения *Salvia sclarea* L./ Айдоган М.Ф. // Институт медицинских наук Инону, Малатья. – 2006.
4. Андреева, В. Ю. Разработка и валидизация методики количественного определения суммы фенолокислот в надземной части зизифоры клиноподиевидной (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) / Андреева В. Ю., Калинкина Г. И., Ли В. В. // Химия растительного сырья. – 2019. - №3. - С.161–168.
5. Байкова, Е. В. Компонентный состав эфирных масел некоторых видов рода *Salvia* L., выращенных в условиях Новосибирска / Е. В. Байкова, Е. А. Королюк, А. В. Ткачев // Химия растительного сырья. – 2002. – № 1. – С. 37–42.
6. Бокарев, И.Н. Воспаление и гемокоагуляция / И.Н. Бокарев // Клиническая медицина. – 2017. №95(2). – С. 101—105. DOI <http://dx.doi.org/10.18821/0023-2149-2017-95-2-101-105>.
7. Бубенчикова, В. Н. Изучение фармакологической активности шалфея блестящего / В.Н. Бубенчикова, Ю. А. Кондратова // Кубанский научный медицинский вестник // - 2010. - №7. - С. 38-40.
8. Бубенчикова, В.Н. Антипролиферативная активность водорастворимых полисахаридных комплексов растений рода *Salvia* L./ В.Н. Бубенчикова,

- Ю.А. Кондратова // Медицинский вестник Башкортостана. - 2013. - № 3. - С. 91-93.
9. Бубенчикова, В.Н. Отхаркивающая активность культивируемого вида шалфея горминового (*Salvia horminum* L.) / В.Н. Бубенчикова // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – Москва, 2015. – №1. – С. 20-22.
10. Гайковая, Л.Б. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты: лабораторные методы в оценке их многофакторного действия / Л.Б. Гайковая // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2010. - Т. 8, № 4. - С. 3-14.
11. Гладышева, О. В. Онтогенез и семенная продуктивность некоторых видов рода *Salvia* L. При интродукции в условиях Центрального Черноземья / О. В. Гладышева // Центральный научный вестник. – 2018. – Т. 3, № 20(61). – С. 24-27.
12. Государственная фармакопея Республики Беларусь [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://farmacognozie.usmf.md/wp-content/blogs.dir/138/files/sites/138/2015/09/2007.-Byelorussian-Pharmacopoeia_Volume-2.pdf
13. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15>.
14. Губанова, Е.А. Фармакогностическое изучение травы шалфея мускатного (*Salvia sclarea* L.) / Е.А. Губанова // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук. - 2010. - С. 23.
15. Гусейнова, А.Э. Эфирное масло и химический состав некоторых перспективных видов рода *Salvia*, распространенных на территории Нахчыванской автономной республики / А. Э. Гусейнова, А. Ш. Ибрагимов, Ф. Х. Набиева // Академия. – 2018. – №4 (31). – С. 13-16.

16. Девятьярова, С. Б. Параметры острой пероральной токсичности комбинированного противопаразитарного препарата в форме спрея / С. Б. Девятьярова, М. В. Арисов // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2022. – № 23. – С. 161-166. – DOI: 10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.161-166.
17. Динамика накопления и компонентный состав эфирных масел некоторых видов рода *Salvia* L./ Н. А. Коваленко, Г. Н. Супниченко, В. Н. Леонтьев [и др.] // Труды БГУ. – 2010. – Т. 5. – С. 27–33.
18. Доля, В.С. Особенности химического состава видов рода *Salvia* L./ В.С. Доля, С.Д. Тржецинский, В.И. Мозуль и др. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2013. – №3(13). – С. 83-85.
19. Драпкина, О.М. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты и возраст-ассоциированные заболевания: реалии и перспективы / О.М. Драпкина, Р.Н. Шепель // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. - 2015. - Т. 11, № 3. - С. 309-316.
20. Дьякова, Н. А. Разработка и валидация методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов из корней подсолнечника однолетнего / Н. А. Дьякова // Химия растительного сырья. – 2022. – № 4. – С. 59–66. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcprm.20220410906>.
21. Идентификация и определение биологически активных веществ шалфея лекарственного *Salvia officinalis* L., полученных в условиях субкритической экстракции / Л.П. Рябоконт, В.В. Милевская, Н.В. Киселева и др. // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2020. – №1. – С. 22-30.
22. Изучение фенолкарбоновых кислот побегов ивы трехтычинковой, произрастающей на Северном Кавказе / Е. Г. Санникова, О. И. Попова, Е. В. Компанцева [и др.] // Фармация и фармакология. 2015. Т. 2, № 9. С. 13–17.
23. Исследование метаболомного профиля *Salvia stepposa* Des.-Shost. методом газовой хроматографии с массовой спектрометрией / К.И. Кашфуллина, С. Р. Хасанова, Н. В. Кудашкина [и др.] // Известия ГГТУ. Медицина, фармация. –

2024. – Т. 3. – № 19. – С. 71–76. DOI: doi.org/10.51620/2687-1521-2024-3-19-71-76.

24. Исследование морфологических и микроскопических признаков и качественный анализ шалфея степного (*Salvia stepposa* Shost.) / К.И. Кашфуллина, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2024. №19(3). – Р. 47-52.
25. Исследование спектральных и хемилюминесцентных свойств эритроцитов человека в присутствии олеиновой и пальмитиновой жирных кислот / В. Г. Артюхов, А. А. Колбешкина, М. А. Наквасина [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2023. – № 3. – С. 59–65.
26. 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.org/10.14258/jcprm.20250316389.
27. Козлов, Г. А. Патент № 2505289 / Г.А. Козлов, Ю.В. Хмельщиков // Фармацевтическая композиция на основе растительной докозагексаеновой кислоты для лечения и профилактики заболеваний печени. – 2014.
28. 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: сборник материалов 65-й всероссийской межвузовской студенческой научной конференции с международным участием. Тверь: Издательство Тверского государственного медицинского университета, –2019. – С. 523–526.
29. Котова, Т.В. Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у пациенток бактериальным вагинозом и кандидозным вульвовагинитом / Т.В. Котова, М.А. Юдина, Г.О. Гречканев // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. –№ 4. – С. 31-33.

- 30.Краснов, Е.А. Современные хроматографические методы (гжх, вэжх) в фармацевтическом анализе. Учебное пособие / Е.А. Краснов, А.А. Блинникова // Сибирский государственный медицинский университет. - Томск. - 2007. - С.80-81.
- 31.Круглякова, А. А. Бета-ситостерин: свойства, подходы к количественному определению / А. А. Круглякова, Г. В. Раменская // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2016. – Т. 11. – № 4. – С. 35–38.
- 32.Курашов, Е.А. Влияние эфирных масел *Potamogeton Pusillus* и *Ceratophyllum Demersum* на микроорганизмы / Е.А. Курашов, Г.Г. Митрукова // Водная среда и природно-территориальные комплексы: исследование, использование, охрана: Материалы IV Школы-конференции молодых ученых с международным участием. - 2011. - С. 109-111.
- 33.Лапина, А. С. Разработка подходов к стандартизации травы монарды дудчатой. / А. С. Лапина, В. А. Куркин // Фармация. – 2019. – Т. – 68. № 4. С. 11–16. DOI: [10/29296/25419218-2019-04-02](https://doi.org/10.29296/25419218-2019-04-02).
- 34.Левая, Я.К. Химический состав и фармакологическая активность некоторых видов шалфея / Я.К. Левая, Г.А. Атажанова // Евразийское Научное Объединение. - 2020. - № 2-1(60). - С. 75-78.
- 35.Макарова, Н.В. Исследование содержания фенолов, флавоноидов, антиоксидантной силы и антирадикальной активности листьев шалфея рода *Salvia tesquicola* (семейства Яснотковые) / Макарова Н.В., Валиулина Д.Ф., Кирюшина В.А. // Химия растительного сырья. – 2020. - №1. – С. 125-131.
- 36.Микроводоросли как новый источник биологически активных соединений, обладающих антибактериальной активностью / А.В. Митишев, Е. Е. Курдюков, О. П. Родина [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2021. - № 7. - С. 24-29.
- 37.Немерешина, О.Н. Изучение биологически активных веществ *Salvia stepposa* / О.Н. Немерешина, Н.Ф. Гусев, А.Р. Кувакова // Вестник Новосибирского

- государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. - 2014. - Т. 12, №3. - С. 36-41.
38. Определитель высших растений Башкирской АССР / А.Н. Алексеев [и др.] // Наука. - 1989. - С. 218.
39. Оценка воздействия стеариновой кислоты (C18:0) на количественный состав микробиома рубцовой жидкости молодняка крупного рогатого скота / В.А. Рязанов, Г.И. Левахин, Г.К. Дускаев и др. // Животноводство и кормопроизводство. – 2020. Т. 103. – № 4. – С. 139–149. DOI: 10.33284/2658-3135-103-4-139.
40. Племенков В. В. Введение в химию природных соединений. Казань, 2001: 376 с.
41. Полирегионарная агрегатометрия крови пациентов с острым тромбозом, как потенциальная модель доклинических исследований новых корректоров системы гемостаза *ex vivo* / А.Л. Ураков, А.В. Самородов, Ф.Х. Камилов [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2017. - Т. 16, № 1 (61). - С. 65-71.
42. 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
43. 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.
44. Полухина, Т.С. Товароведческие показатели сырья шалфея степного (*Salvia stepposa* L.), заготовленного в Астраханской области / Т.С. Полухина // Бюллетень науки и практики. - 2020. - №7. - С. 88-92.
45. Потанина, А. П. Разработка методики количественного определения флавоноидов в растительном сборе «Кардиофит» / А. П. Потанина, С. Р.

- Хасанова, Н. В. Кудашкина // Башкирский химический журнал. – 2013. – Т. 20. – № 3. – С. 60–62.
46. Потанина, О.Г. Разработка общих фармакопейных требований к анализу лекарственного растительного сырья / Потанина О.Г., Самылина И.А. // Фармация. – 2016. - №63 (3). – С. 48-50
47. Применение метода газовой хромато-масс-спектрометрии в исследовании биологически активных веществ *Salvia stepposa* / О. Н. Немерешина, А. А. Никоноров, А. А. Тиньков [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2017. – № 2. – С. 32–37.
48. Ресурсоведение и стандартизация лекарственного растительного сырья / К.А. Пупыкина, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина [и др.] // — Уфа: учебное пособие ФГБОУ ВО БГМУ. - 2019. — С. 116.
49. Розмариновая кислота из *Salvia stepposa* и ее антирадикальная активность / Я. К. Левая, Г. А. Атажанова, С. А. Ивасенко [и др.] // Вестник Карагандинского университета. Серия: Биология. Медицина. География. – 2023. – Т. 112, № 4. – С. 150-155. – DOI: 10.31489/2023BMG4/150-155.
50. Руф, Р. Р. Роль воспаления в развитии атеросклероза и сердечно-сосудистых событий / Р.Р. Руф // Сибирское медицинское обозрение. – 2015. - №6 (96). – С. 23-29.
51. Собакарь, М.С. Антиоксидантная терапия и метаболические подходы к лечению заболеваний сердечно сосудистой системы / М.С. Собакарь, Е.В. Ших // Биомедицина - 2010. – № 3. – С.10-21.
52. Состояние таксономии, морфологии и селекции шалфея мускатного (обзор) / Н.И. Бочкарёв, С.В. Зеленцов, Т.П. Шуваева [и др.] // Масличные культуры. – 2014. - № 1(157-158). - С. 165-177.
53. Сравнительное исследование количественного содержания дитерпеновых соединений в листьях некоторых видов рода шалфей (*Salvia L.*) / Н. П. Егоров, В. М. Рыжов, В. А. Куркин [и др.] // Аспирантский вестник Поволжья. – 2025. – Т. 25, № 3. – С. 45-51. – DOI: 10.35693/AVP679224.

- 54.Тавасиев, Т. В. Антимикобактериальная эффективность эфирных масел *in vitro* у больных лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких / Т.В. Тавасиев, К. В. Коршунова // Молодые ученые - медицине: Материалы XXII научной конференции молодых ученых и специалистов с международным участием. – 2023. – С. 71–76.
- 55.Фармакологические свойства *Salvia officinalis* и его компонентов / Р. Н. Айтбеков, М. К. Мурзахметова, Г. Т. Жаманбаева [и др.] // Фармация Казахстана. – 2023. – № 5. – С. 390–400. DOI: 10.53511/pharmkaz.2023.26.73.051.
- 56.Флора СССР / А.Г. Борисова, Е.В. Волкова, С.Г. Горшкова [и др.] // – 1954. - 21 т. – С. 332-339.
- 57.Халиуллина, А. С. Количественное определение дитерпеновых кислот в листьях шалфея лекарственного / А. С. Халиуллина, Р. Ш. Хазиев, А. А. Саламатин // Журнал аналитической химии. – 2017. – Т. 72, № 7. – С. 681-685. – DOI 10.7868/S0044450217070088
- 58.Химический состав и антимикробные свойства эфирных масел *Kitagawia baicalensis* (Redow. Ex Willd.) Pimenov / Ж.А. Тыхеев, Е.П. Дыленова, В.В. Тараскин [и др.] // Химия растительного сырья. - 2022. - № 4. - С. 133-140. DOI: 10.14258/jcprm.20220411270.
- 59.Щетинина, С.Ю. Значение минеральных веществ для здоровья человека / С.Ю. Щетинина // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. – 2024. - № 4-4 (91). - С. 27-31. DOI: 10.24412/2500-1000-2024-4-4-27-31.
- 60.A review of botany, phytochemistry, and biological activities of eight *Salvia* species widespread in Kazakhstan / Y. Levaya, G. Atazhanova, V. Gabe [et al.] // Molecules. – 2025. –Vol.30, № 5. – P. 1142. – DOI: 10.3390/molecules30051142.
- 61.Ahmed M. Leaf oil composition of *Salvia hispanica* L.from three geographical areas / Ahmed M., Ting I. P., Scora R. W. // J. Essent. Oil Res. – 2011. – VoL.6, № 6. – P. 223–228. – DOI: 10.1080/10412905.1994.9698368.

62. Antibacterial activity of ultrasonic extracts of *Salvia stepposa* growing in Kazakhstan / Y. Levaya, M.E. Zholdasbaev, G. Atazhanova [et al.] // Bulletin of the Karaganda University. Biology, Medicine, Geography Series. - 2021. - Vol.101, №1. - P. 45-49.
63. Anticancer activity of *Salvia officinalis* essential oil against HNSCC cell line (UMSCC1) / S. Sertel, T. Eichhorn, P.K. Plinkert [et.al.] // HNO. – 2011. №59. - P.1203–1208.
64. Anti-cancer potentiality of linoelaidic acid isolated from marine Tapra fish oil (*Ophisthopterus tardoore*) via ROS generation and caspase activation on MCF-7 cell line / A. Dutta, T. Panchali, A. Khatun [et al.] // Scientific Reports. - 2023. - VoL.13, №1. - P. 14125. DOI: 10.1038/s41598-023-34885-3.
65. Antidiabetic effects of cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid may be mediated via anti-inflammatory effects in white adipose tissue / F. Moloney, S. Toomey, E. Noone [et al.] // Diabetes. - 2007. - Vol.56, №3. - P. 574-582. DOI: 10.2337/db06-0384.
66. Antifungal activity of condensed tannins from *Stryphnodendron adstringens*: effect on *Candida tropicalis* growth and adhesion properties / A.T. Morey, F.C. de Souza, J.P. Santos [et al.] // Curr Pharm Biotechnol. - 2016. – № 17(4). – P. 365-375. DOI:10.2174/1389201017666151223123712.
67. Antihyperlipidemic effects of *Salvia officinalis* L. leaf extract in patients with hyperlipidemia: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial / S. Kianbakht, B. Abbasi, M. Perham [et al.] // Phytotherapy Research. – 2011. – Vol.25. – P. 1849–1853.
68. Anti-inflammatory effect of the *Salvia sclarea* L. ethanolic extract on lipopolysaccharide-induced periodontitis in rats / M. Kostić, D. Kitić, M.B. Petrović, [et al.] // Journal of Ethnopharmacology – 2017. - №199. – P. 52-59. DOI: 10.1016/j.jep.2017.01.020.
69. Anti-Inflammatory Property of n-Hexadecanoic Acid: Structural Evidence and Kinetic Assessment / V. Aparna, K. V. Dileep, P. K. Mandal [et al.] // Chemical

- Biology and Drug Design. - 2012. - VoL.80, No. 3. - P. 434-439. DOI: 10.1111/j.1747-0285.2012.01418.x.
70. Antimicrobial effects of methanolic extract of *Salvia officinalis* L, including mrsa and multidrug resistant *Acinetobacter Baumannii* / M.A. Randhawa, A. Bawadekji, M.A. Ali // International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research. – 2018. - №8 (4). - P.1-5
71. Antioxidant activity and sensory evaluation of a rosmarinic acid-enriched extract of *Salvia officinalis* / E. L. Bakota, J. K. Winkler-Moser, M. A. Berhow [et al.] // J. Food Sci. – 2015. Apr. 80(4). – P. C711–717. DOI: 10.1111/1750-3841.12837.
72. Antioxidant Phenolic Compounds in *Salvia officinalis* L. and *Salvia sclarea* L. / F. Medjahed, A. Merouane, A. Saadi [et. al.] // Chilean Journal of Agricultural Research. – 2016. – Vol.76. – P. 195–200.
73. Antiprotease and antimetastatic activity of ursolic acid isolated from *Salvia officinalis* / A. Jedinak, M. Mucková, D. Košťálová [et al.] // Z Naturforsch. – 2006. - №61. – P. 777–782.
74. Antonsen, S. Synthesis of racemic beta-chamigrene, a spiro[5.5]undecane sesquiterpene / Antonsen, S., Skattebol, L., Stenstrom, Y. // Molecules. – 2014. – № 19. – P. 20664-20670. DOI: org/10.3390/molecules191220664.
75. Application of UHPLC-ESI-QTOFMS in Phytochemical Profiling of Sage (*Salvia officinalis*) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) / R. Velamuri, Y. Sharma, J. Fagan [et. al.] // Planta Medica International Open . – 2020. – Vol.7. – P. 133–144.
76. Behradmanesh S. Effect of *Salvia officinalis* on diabetic patients / Behradmanesh S, Derees F, Rafieian-kopaei M. // J Ren Inj Prev. – 2013. - №2. – P. 51–54.
77. British Herbal Pharmacopoeia. Processed *Salvia Miltiorrhiza* Rhizome and Root // British Pharmacopeia Online. - 2014. - IV. - C. 1-4.
78. Chemical and genetic relationships among sage (*Salvia officinalis* L.) cultivars and judean sage (*Salvia judaica* Boiss.) / A. Böszörményi, É. Héthelyi, Á. Farkas [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2009. – Vol. 57, № 11. – P. 4663 – 4667.

79. Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions / A. Russo, C. Formisano, D. Rigano [et.al.] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2013. - №55. - P. 42–47.
80. Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxicity studies on *S. erianthum* and *S. macranthum* essential oils / E.E. Essien, I. A. Ogunwande, W. N. Setzer [et al.] // *Pharmaceutical Biology*. - 2012. - VoL.50, No. 4. - P. 474-480. DOI: 10.3109/13880209.2011.614623.
81. Chemical constituents of *Anacolosia pervilleana* and their antiviral activities / M. Bourjot, P. Leyssen, C. Eydoux [et al.] // *Fitoterapia*. – 2012. – T. 83. – № 6. - P. 1076–1080. DOI: 10.1016/j.fitote.2012.05.004.
82. Chlorogenic acid: a systematic review on the biological functions, mechanistic actions, and therapeutic potentials / V. Nguyen, E. G. Taine, D. Meng [et.al.] // *Nutrients*. – 2024. – Vol.16, № 7. – P. 924. DOI: 10.3390/nu16070924.
83. Chronic food administration of *Salvia sclarea* oil reduces animals' anxious and dominant behavior / M. Gross, E. Neshet, T. Tikhonov // *J Med Food*. – 2013. - №16(3). – P.216–222. DOI: 10.1089/jmf.2012.0137.
84. Chronic Supplementation with a Mix of *Salvia officinalis* and *Salvia lavandulaefolia* improves morris water maze learning in normal adult C57Bl/6J Mice / A. L. Dinel, C. Lucas, D. Guillemet [et al.] // *Nutrients*. – 2020. – № 12(6). – P. 1777. DOI: 10.3390/nu12061777.
85. Cis-vaccinic acid, dibutyl-cyanamide and 9,12-octadecadienoic acid from pistachio (*Pistachia vera*) seed coat (PSCE) induced nuclear damage and cytotoxicity in human colon cancer HT-115 cells / M.S. Alkaltham, P. Subash-Babu, A.M. Salamatullah [et al.] // *Emirates Journal of Food and Agriculture*. - 2023. - VoL.35, No. 10. - P. 862-868. DOI: 10.9755/ejfa.2023.v35.i10.3163.
86. Colon cancer chemoprevention by sage tea drinking: decreased DNA damage and cell proliferation / D.F. Pedro, A.A. Ramos, C.F. Lima // *Phytotherapy Research*. – 2016. - №30. – P.298-305.

87. Comparative analysis of five *Salvia* species using LC-DAD-QToF / B. Avula, J. Y. Bae, A. G. Chittiboyina [et al.] // J Pharm Biomed Anal. – 2022. – Vol.209. – P. 114520. – DOI: 10.1016/j.jpba.2021.114520.
88. Conjugated linoleic acid isomer effects in atherosclerosis: growth and regression of lesions / D. Kritchevsky, S. A. Tepper, S. Wright [et al.] // Lipids. - 2004. - Vol.39, No. 7. - P. 611-616. DOI: 10.1007/s11745-004-1273-8.
89. Constituents of sage (*Salvia officinalis*) with in vitro affinity to human brain benzodiazepine receptor / D. Kavvadias, V. Monschein, P. Sand [et al.] // Planta Medica. – 2003. №69. – P.113–117.
90. Cytotoxic activity of α -humulene and transcaryophyllene from *Salvia officinalis* in animal and human tumor cells/ El Hadri A, del Río MAG, Sanz J [et al.] // An R Acad Nac Farm. – 2010. №76. – P. 343–356.
91. Dinesh Kumar G. GC-MS analysis of bioactive compounds from ethanolic leaves extract of *Eichhornia crassipes* (Mart) Solms and their pharmacological activities / Dinesh Kumar G, Karthik M, Rajakumar R. // The Pharma Innovation Journal. – 2018. – T. 7. – № 8. – P. 459–462.
92. Effects of cholinesterase inhibiting sage (*Salvia officinalis*) on mood, anxiety and performance on a psychological stressor battery / D. O. Kennedy, S. Pace, C. Haskell [et al.] // Neuropsychopharmacology. – 2006. – Vol.31. – P. 845–852.
93. Efficacy and tolerability of a spray with *Salvia officinalis* in the treatment of acute pharyngitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled study with adaptive design and interim analysis / M. Hubbert, H. Sievers, R. Lehnfeld [et al.] // European Journal of Medical Research. – 2006. – Vol.11. – P. 20–26.
94. Elansary, H.O. In vitro antioxidant, antifungal and antibacterial activities of five international Calibrachoa cultivars / Elansary H.O., Yessoufou K. // Nat Prod Res. - 2016. – № 30(11). – P. 1339-1342. DOI: 10.1080/14786419.2015.1055745.
95. Essential oil composition variability in sage (*Salvia officinalis* L.) / G. Bernotiene, O. Nivinskiene, R. Butkiene [et al.] // Chemija. – 2007. – T. 18, – № 4. – P. 38–43.

96. Essential oil variation of *Salvia officinalis* (L.), grown on heavy metals polluted soil / I. Stancheva, M. Geneva, M. Hristozkova [et. al.] // *BiotechnoL.Eq.* – 2009. – V. 23. Special edition. – P. 373–376.
97. Essential oils as an effective alternative for the treatment of COVID-19: Molecular interaction analysis of protease (Mpro) with pharmacokinetics and toxicological properties / S. Panikar, G. Shoba, M. Arun [et al.] // *Journal of Infection and Public Health.* - 2021. №14(5). - P. 601–610. DOI: 10.1016/j.jiph.2020.12.037.
98. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part I / C.G. Helmick, D. T. Felson, R. C. Lawrence [et al.] // *Arthritis Rheumatology.* – 2008. – № 58. – P.15-25.
99. *European Pharmacopoeia 8.0.* – 2013.
100. Evaluation of antibacterial activity of *Salvia stepposa* extracts isolated using microwave extraction, growing wild in Kazakhstan / Y. Levaya, M. E. Zholdasbaev, G. A. Atazhanova [et al.] // *Trends in sciences.* – 2022. – Vol.19, № 7. – P. 3217.
101. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts / M.A. Sarhan, Kh. Selim, Kh. Ibrihem [et.al.] // *Industrial Crops and Products* – 2013. – Vol. 43. – P.827-831.
102. Evolution and chemical diversity of the volatile compounds in *Salvia* species / F. Wang, Y. Huang, Z. Hou [et. al.] // *Phytochemical Analysis.* - 2024. – Vol.35, № 3. – P. 493–506. – DOI: 10.1002/pca.3306.
103. Extraction of carnosic acid and carnosol from sage (*Salvia officinalis* L.) leaves by supercritical fluid extraction and their antioxidant and antibacterial activity / V. Pavić, M. Jakovljević, M. Molnar [et al.] // *Plants.* – 2019. – Vol.8, № 1. – P. 16.
104. Farkas P. Composition of essential oils from the flowers and leaves of *Salvia sclarea* (*Lamiaceae*), cultivated in Slovak Republic / P. Farkas // *Journal of*

- Essential Oil Research. – 2005. – №17(2). – P. 141-144. DOI: 10.1080/10412905.2005.9698858.
105. Fingerprint of selected *Salvia* species by HS-GC-MS analysis of their volatile fraction / J. Rzepa, L. Wojtal, D. Staszek [et.al.] // Journal of Chromatographic Science. – 2009. – Vol.47, № 7. – P. 575–580. – DOI: 10.1093/chromsci/47.7.575.
106. Ghorbani, A. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components / A. Ghorbani, M. Esmailizadeh // Journal of Traditional and Complementary Medicine. – 2017. – Vol.7, № 4. – P. 433–440.
107. Hade, A. S. The effect of the alcoholic extract of *Salvia officinalis* on some toxic fungi isolated from dairy product / A. S. Hade, B. S. Hassan // AIP Conference Proceedings. – 2023. – Vol.2414. – P. 020024.
108. Hasanein, P. Preventive effects of *Salvia officinalis* L. against learning and memory deficit induced by diabetes in rats: possible hypoglycaemic and antioxidant mechanisms / Hasanein P, Felehgari Z, Emamjomeh A. // Neuroscience Letters. – 2016. – №622. – P. 72-77.
109. Heba, M. I. A. In-vivo Anticonvulsant and Analgesic Activities of Sclareol Isolated from *Salvia officinalis* L / M. I. A. Heba, F. A. Rania, I. E. Abdelsamed // Journal of Biologically Active Products from Nature. – 2022. – №12 (2). – P. 125-136.
110. Identification of *Salvia* species using high-performance liquid chromatography combined with chemical pattern recognition analysis / Y. Wang, K. Jiang, L. Wang [et. al.] // J Sep Sci. – 2018. – Vol.41, № 3. – P. 609–617. – DOI: 10.1002/jssc.201701066.
111. *In vitro* and *ex vivo* antiangiogenic activity of *Salvia officinalis* / M. Keshavarz, A. Mostafaie, K. Mansouri [et al.] // Phytotherapy Research. – 2010. – Vol.24. – P. 1526–1531.

112. *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of ferulic acid: a comparative study with other natural oxidation inhibitors / S. Itagaki, T. Kurokawa, C. Nakata [et al.] // Food Chemistry. - 2009. - Vol. 114. - P. 466–471.
113. Kianbakht, S. Improved glycemic control and lipid profile in hyperlipidemic type 2 diabetic patients consuming *Salvia officinalis* L. leaf extract: a randomized placebo-controlled clinical trial / S. Kianbakht, F. H. Dabaghian // Complement. Ther. Med. – 2013. – Vol.21. – P. 441–446.
114. Lizarraga-Valderrama, L.R. Effects of essential oils on central nervous system: focus on mental health / L.R. Lizarraga-Valderrama // Phytotherapy Research. – 2021. – Vol.35. – P. 657–679. – DOI: 10.1002/ptr.6854.
115. Lopresti, A. L. *Salvia* (Sage): A review of its potential cognitive-enhancing and protective effects / A. L. Lopresti // Drugs in R&D. – 2017. – Vol.17, № 1. – P. 53–64.
116. Majumder, S. Natural anti-inflammatory terpenoids in *Camellia japonica* leaf and probable biosynthesis pathways of the metabolome / S. Majumder, A. Ghosh, M. Bhattacharya // Bulletin of the National Research Centre. – 2020. – T. 44. – № 1. – P. 1–14. DOI: 10.1186/s42269-020-00397-7.
117. Maleki, S. J. Anti-inflammatory effects of flavonoids / S. J. Maleki, J. F. Crespo, B. Cabanillas // Food Chemistry. – 2019. – Vol.299. – P. 125124. – DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125124.
118. Malencic, D. R. Mineral composition of selected *Salvia* species growing wild in the Vojvodina province / D. R. Malencic, Z. S. Kevresan, M. T. Popovic // Zbornik Matice srpske za prirodne nauke. – 2003. – Vol.105. – P. 25–33. – DOI: 10.2298/ZMSPN0305025M.
119. Meadow sage (*Salvia pratensis* L.): A neglected sage species with valuable phenolic compounds and biological potential / N. Srećković, D. Mišić, U. Gašić [et al.] // Industrial Crops and Products. - 2022. - Vol.189. - P. 115841.

120. Miao, M. Pharmacological action and potential targets of chlorogenic acid / M. Miao, L. Xiang // *Advances in pharmacology*. – 2020. – Vol.87. – P. 71–88. – DOI: 10.1016/bs.apha.2019.12.002.
121. Miura, K. Apianane terpenoids from *Salvia officinalis* / K. Miura, H. Kikuzaki, N. Nakatani // *Phytochemistry*. – 2001. – Vol.58. – P. 1171–1175.
122. Montesino, N. L. *Salvia* Species as sources of natural products with antiprotozoal activity / N. L. Montesino, T. J. Schmidt // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – T. 19. – № 1. P. 264. DOI: 10.3390/ijms19010264.
123. Multiomic profiling and neuroprotective bioactivity of *Salvia* hairy root-derived extracellular vesicles in a cellular model of Parkinson's disease / M. Conte, M. Vietri, F. Mensitieri [et. al.] // *International Journal of Nanomedicine*. - 2024. - №11(19). - P.9373-9393. DOI: 10.2147/IJN.S479959.
124. *Nigella sativa* L. seed extracts promote wound healing progress by activating VEGF and PDGF signaling pathways: an *in vitro* and *in silico* study / C.P. Palanisamy, P. Alugoju, S. Jayaraman [et al.] // *F1000Research*. - 2023. - Vol.12. - P. 436. DOI: 10.12688/f1000research.132106.1.
125. Ogawa, S. Tannins from *Acacia mearnsii* De Wild. Bark: tannin determination and biological activities/ S. Ogawa, Y. Yazaki // *Molecules*. - 2018. - №23(4). – P. 837. DOI: 10.3390/molecules23040837
126. Palmitoleic acid (16:1n7) increases oxygen consumption, fatty acid oxidation and ATP content in white adipocytes / M. M. Cruz, A. B. Lopes, A. R. Crisma [et al.] // *Lipids in Health and Disease*. - 2018. - Vol.17, No. 1. - P. 1-12. DOI: 10.1186/s12944-018-0710-z.
127. Panasenکو, O. Chromato-mass-spectrometric research in *Salvia grandiflora* L., *Salvia pratensis* L. and *Salvia verticillata* L. aboveground organs / O. Panasenکو. V.V. Parchenko, Y. Parchenko // *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. - 2021. - P. 32-40.

128. Pharmacological perspectives from Brazilian *Salvia officinalis* (*Lamiaceae*): antioxidant, and antitumor in mammalian cells / C.S.C. Garcia, C. Menti, A.P.F. Lambert [et al.] // *An Acad Bras Ciências*. – 2016. - №88. – P. 281–292.
129. Pharmacological properties of tanshinones, the natural products from *Salvia miltiorrhiza* / X.Wang, Y.Yang, X.Liu [et. al.] // *Advances in Pharmacology*. – 2020. - Vol.87. P. 45-70. DOI: 10.1016/bs.apha.2019.10.001
130. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. – 2005. - Vol.1.
131. Phosphorus-drought interaction modulates growth dynamics and essential oil biosynthesis in *Rosmarinus officinalis* / M. Alfalah, R. Bouharroud, A. Beniaich [et.al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2025. Vol. 16. P. 1646658. doi: 10.3389/fpls.2025.1646658
132. Phytochemical characterization and effect of *Calendula officinalis*, *Hypericum perforatum*, and *Salvia officinalis* infusions on obesity associated cardiovascular risk / D. Hernandez-Saavedra, I. Perez-Ramirez, M. Ramos-Gomez, S. Mendoza-Diaz, G. Loarca-Pina, R. Reynoso-Camacho // *Medicinal Chemistry Research*. – 2016. - №25. – P.163–172.
133. 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 [et al.] // *Food Chem*. –2013. - №136. – P.120–129.
134. Phytol, SSADH inhibitory diterpenoid of *Lactuca sativa* / Myun-Ho Bang, Soo Young Choi, Tae-O Jang [et al.] // *Archives of Pharmacal Research*. - 2002. - Vol.25, №5. - P. 643-646. DOI: 10.1007/bf02976937.
135. Phytol: A review of biomedical activities / M.T. Islam, E.S. Ali, Sh.J. Uddin [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. - 2018. - VoL.121. - P. 82-94. DOI: 10.1016/j.fct.2018.08.032.
136. Polyphenol-, mineral element content and total antioxidant power of sage (*Salvia officinalis* L.) extracts / M. Then, R. Szöllösy, K. Vásárhelyi-Perédi [et. al.] // *Acta Hort*. – 2004. – Vol. 629. – P.123 – 129.

137. Potential of *Salvia sclarea* L. for phytoremediation of soils contaminated with heavy metals / Angelova V. R., Ivanova R. V., Todorov G. M. [et al.] // Int. J. Agr. Biosyst. Eng. – 2016. – Vol.10, № 12. – P. 690–700.
138. Poullos, E. Current state of the art on the antioxidant activity of sage (*Salvia* spp.) and its bioactive components / E. Poullos, C. Giaginis, G. K. Vasios // Planta Medica. – 2020. – Vol.86, № 4. – P. 224–238. – DOI: 10.1055/a-1087-8276.
139. Preparation of encapsulated α -tocopherol acetate and study of its physico-chemical and biological properties / Iskineyeva A., Mustafaeva A., Zamaratskaya G. [et al.] // Bulletin of the Karaganda University. Chemistry Series. – 2021. – №3(103). – P. 27–36. – DOI: 10.31489/2021Ch3/27-36.
140. Protective effect of lupeol and lupeol linoleate in hypercholesterolemia associated renal damage / V. Sudhahar, S.A. Kumar, P. Varalakshmi [et. al.] // Molecular and Cellular Biochemistry. – 2008. – T. 317. – № 1–2. – P. 11–20. DOI: 10.1007/s11010-008-9786-5.
141. Sage tea drinking improves lipid profile and antioxidant defenses in humans / C. M. Sa, A. A. Ramos, M. F. Azevedo [et.al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2009. – Vol.10. – P. 3937–3950.
142. *Salvia fruticosa*, *Salvia officinalis*, and rosmarinic acid induce apoptosis and inhibit proliferation of human colorectal cell lines: the role in MAPK/ERK pathway / C.P. Xavier, C.F. Lima, M. Fernandes-Ferreira [et. al.] // Nutrition and Cancer. – 2009. - №61. – P.564–571.
143. *Salvia officinalis* L. essential oil: characterization, antioxidant properties, and the effects of aromatherapy in adult patients / M.D. Mot, S. Gavrilas, A.I. Lupita [et al.] // Antioxidants (Basel). – 2022. – Vol.11, № 5. – P. 808. DOI: 10.3390/antiox11050808.
144. *Salvia officinalis* L. Essential oils from Spain: Determination of composition, antioxidant capacity, enzybiotic, and antimicrobial bioactivities / A. B. Cutillas, A. Carrasco, R. Martinez-Gutierrez [et al.] // Chemistry and biodiversity – 2017. - №14(8). DOI: 10.1002/cbdv.201700102.

145. *Salvia verticillata* (L.)-biological activity, chemical profile, and future perspectives / S. Ivanova, Z. Dzhakova, R. Staynova [et.al.] // Pharmaceuticals (Basel). – 2024. - №17(7). – P.859. doi: 10.3390/ph17070859
146. Salvianolic acid C potently inhibits SARS-CoV-2 infection by blocking the formation of six-helix bundle core of spike protein / C. Yang, X. Pan, X. Xu [et.al.] // Signal Transduction and Targeted Therapy – 2020. - №5. P. 220. doi: 10.1038/s41392-020-00325-1
147. Santos-Gomes, P. C. Essential oil produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L.) / P. C. Santos-Gomes, M. Fernandes-Ferreira // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2003. – T. 51. – P. 2260–2266.
148. Screening of Hallucinogenic Compounds and Genomic Characterisation of 40 Anatolian Salvia Species / S. D. Hatipoglu, B. Yalcinkaya, M. Akgoz [et al.] // Phytochemical Analysis. – 2017. – Vol.28, № 6. – P. 541–549. – DOI: 10.1002/pca.2703.
149. Shojaeifard, Z. Chemometrics-based LC-UV-ESIMS analyses of 50 Salvia species for detecting their antioxidant constituents / Z. Shojaeifard, B. Hemmateenejad, A. R. Jassbi // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. - 2021. – Vol.193. – P. 113745. – DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113745.
150. South African Salvia species: a review of biological activities and phytochemistry / G. P. Kamatou, N. P. Makunga, W. P. Ramogola [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2008. – Vol.119, № 3. – P. 664–672. – DOI: 10.1016/j.jep.2008.06.030.
151. Systematic review of clinical trials assessing pharmacological properties of *Salvia* species on memory, cognitive impairment and Alzheimer's disease / M. Miroddi, M. Navarra, M. C. Quattropiani [et. al.] // CNS Neuroscience & Therapeutics. – 2014. – Vol.20, № 6. – P. 485–495. – DOI: 10.1111/cns.12270.
152. Tannins and human health: a review / K. T. Chung, T. Y. Wong, C. I. Wei [et al.] // Crit Rev Food Sci Nutr. - 1998. – №38(6). – P. 421-464. DOI:10.1080/10408699891274273.

153. The anticancer properties of *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Danshen): a systematic review / X. Chen, J. Guo, J. Bao [et al.] // *Med Res Rev.* - 2014 №34(4). – P. 768–794. DOI: 10.1002/med.21304.
154. The chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Salvia fruticosa* growing wild in Libya / Abdulhamid A., Giweli, Ana M. Džamić [et al.] // *Arch. Biol. Sci.* – 2013. - №65 (1). P. 321-329.
155. The cytotoxic activity of ursolic acid derivatives / Ma CM, Cai SQ, Cui JR [et. al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry.* – 2005. – №40(6). – P. 582–589. DOI: 10.1016/j.ejmech.2005.01.001.
156. The different phytochemical profiles of *Salvia officinalis* dietary supplements labelled for menopause symptoms / V. Maggini, G. Bertazza, E. Gallo [et. al.] // *Molecules.* – 2023. – Vol.29, № 1. – P. 94. – DOI: 10.3390/molecules29010094.
157. Therapeutic potential of rosmarinic acid: a comprehensive review / M. Nadeem, M. Imran, T. Aslam Gondal [et. al.] // *Applied Sciences.* – 2019. №9. – P.3139. doi: 10.3390/app9153139.
158. Tober, C. Modulation of neurological pathways by *Salvia officinalis* and its dependence on manufacturing process and plant parts used *BMC Complement* / C. Tober, R. Schoop // *Altern Med.* – 2019. – №19 – P. 128.
159. Topçu, G. Bioactive triterpenoids from *Salvia* species / G. Topçu // *Journal of Natural Products.* – 2006. – Vol.69, № 3. – P. 482–487. – DOI: 10.1021/np0600402.
160. Uncommon Terpenoids from *Salvia* Species: Chemistry, Biosynthesis and Biological Activities / S. H. Ghoran, F. Taktaz, A. A. Mozafari [et al.] // *Molecules.* – 2022. – № 27(3). – P.1128. DOI: 10.3390/molecules27031128.
161. Yinrong, L. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*) / L. Yinrong, L. Y. Foo // *Food Chemistry.* – 2001. №75 (2). – P. 197-202.

162. γ -Sitosterol from *Acacia nilotica* L. induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis through c-Myc suppression in MCF-7 and A549 cells / S. Sundarraj, R. Thangam, V. Sreevani [et.al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2012. – T. 141. – № 3. – P. 803–809. DOI: 10.1016/j.jep.2012.03.014.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Форма № 94 ИЗ, ПМ, ПО-2016

Федеральная служба по интеллектуальной собственности
Федеральное государственное бюджетное учреждение«Федеральный институт промышленной собственности»
(ФИПС)

Бережковская наб., д. 30, корп. 1, Москва, Г-59, ГСП - 3, 125993

Телефон (8-499) 240-60-15 Факс (8-495) 531-63-18

УВЕДОМЛЕНИЕ О ПРИЕМЕ И РЕГИСТРАЦИИ ЗАЯВКИ

| | | |
|---|---------------------------------------|---|
| 24.10.2025 <i>Дата поступления (дата регистрации)</i> | W25068913 <i>Входящий №</i> | 2025129219 <i>Регистрационный №</i> |
|---|---------------------------------------|---|

| | | |
|---|--|-------------------|
| ДАТА ПОСТУПЛЕНИЯ <small>(дата регистрации) принятия документов заявителем</small> | (21) РЕГИСТРАЦИОННЫЙ № | ВХОДЯЩИЙ № |
| | (85) ДАТА ПЕРЕВОДА международной заявки на национальную фазу | |
| <input type="checkbox"/> (86) <small>(регистрационный номер международной заявки в форме международной заявки, подлежащая международной публикации)</small> <input type="checkbox"/> (87) <small>(номер в форме международной публикации международной заявки)</small> <input type="checkbox"/> (96) <small>(номер национальной заявки в форме изобретения)</small> <input type="checkbox"/> (97) <small>(номер в форме публикации национальной заявки)</small> | АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ <small>(личный адрес, факс или электронная почта заявителя)</small> 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3, Кабром Милуша Фузиевич (450008, g. Ufa, ul. Lenina, 3, Kabroma Milusha Fuziyevich) Телефон: 83472729872 Факс: Адрес электронной почты: info@fips.fips.ru АДРЕС ДЛЯ СЕКРЕТНОЙ ПЕРЕПИСКИ <small>(указывается при подаче заявки на секретные изобретения)</small> | |
| ЗАЯВЛЕНИЕ <small>о выдаче патента на изобретение</small> | В Федеральную службу по интеллектуальной собственности Бережковская наб., д. 30, корп. 1, г. Москва, Г-59, ГСП-3, 125993, Российская Федерация | |
| (54) НАЗВАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНОЕ СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ (ВАРИАНТЫ) | | |
| (71) ЗАЯВИТЕЛЬ (фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии) федерального лица или наименование юридического лица (с указанием учредительского документа), место жительства или место нахождения, наименование страны и почтовый индекс) Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «BASHKIRSKII GOSUDARSTVENNYI MEDITSINSKII UNIVERSTITET» Ministerstva zdravookhraneniya Rossiiskoi Federatsii) 450008, Российская Федерация, 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3 (450008, Rossiyskaya Federatsiya, 450008, g. Ufa, ul. Lenina, 3) | ИДЕНТИФИКАТОРЫ ЗАЯВИТЕЛЯ ОГРН 1 02 02 02 561136 КПП 02 74 01 001 ИНН 02 74 02308 8 СНИЛС ДОКУМЕНТ (тип, серия, номер) КОД СТРАНЫ (если не установлен) RU | |
| <input type="checkbox"/> изобретение создано за счет средств федерального бюджета Заявитель является: <input type="checkbox"/> государственным заказчиком <input type="checkbox"/> муниципальным заказчиком исполнитель работ (указать наименование) <input type="checkbox"/> исполнителем работ по: <input type="checkbox"/> государственному контракту <input type="checkbox"/> муниципальному контракту <input type="checkbox"/> соглашению о предоставлении субсидии <input type="checkbox"/> гранту <input type="checkbox"/> государственному заданию <input type="checkbox"/> муниципальному заданию заказчик работ (указать наименование) | | |

| | | |
|--|----|------------------------------------|
| Общее количество документов в листах | 27 | Лицо, зарегистрировавшее документы |
| Из них: - количество листов комплекта изображений изделия (для промышленного образца) | | Автоматизированная система |
| Количество платежных документов | 1 | |
| Сведения о состоянии делопроизводства по заявкам размещаются в Открытых реестрах на сайте ФИПС по адресу: www.fips.ru/registers-web | | |

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава
России, академик РАН, профессор
В.Н. Павлов



« 06 » 10 2025 г

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов диссертационной работы Кашфуллиной Камиллы Ильдаровны «Фармакогностическое исследование шалфея степного (*Salvia stepposa* DES.-SHOST.) из флоры Республики Башкортостан» представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Комиссия в составе: председатель - заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники, д.фарм.н., профессор Кудашкина Н.В.

члены комиссии: профессор кафедры фармакогнозии и ботаники, д.фарм.н Пупыкина К.А., доцент кафедры фармакогнозии и ботаники, к.фарм.н. Шакирова Р.Р. составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Кашфуллиной Камиллы Ильдаровны «Фармакогностическое исследование шалфея степного (*Salvia stepposa* DES.-SHOST.) из флоры Республики Башкортостан», внедрены в учебный и научно-исследовательский процесс кафедры фармакогнозии и ботаники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. (450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3) и применяются при изучении вопросов качественного и количественного анализа лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды и эфирные масла, а также при разработке методов стандартизации лекарственного растительного сырья и средств растительного происхождения.

Председатель комиссии

Н.В. Кудашкина

Члены комиссии:

К.А. Пупыкина

Р.Р. Шакирова

УТВЕРЖДАЮ
 Директор ООО «Урал»
 Н.С. Нургалеев
 « 1 » октября 2025 г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов диссертационной работы Кашфуллиной Камиллы Ильдаровны «Фармакогностическое исследование шалфея степного (*Salvia stepposa* DES.-SHOST.) из флоры Республики Башкортостан» представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия в работу ООО «Урал»

Комиссия в составе заведующей производственной лаборатории Мельниковой Елизаветы Николаевны, технолога Ахметшиной Регины Альфридовны, технолога Германовой Ульяны Васильевны подтверждает использование материалов диссертационного исследования Кашфуллиной Камиллы Ильдаровны, посвященного изучению возможностей использования листьев шалфея степного в качестве лекарственного растительного сырья в работе ООО «Урал» (450521, Республика Башкортостан, Уфимский район, деревня Шмидтово, ул Кирова, д. 1).

Полученные автором результаты разработки лекарственных средств и методов их стандартизации используются в работе ООО «Урал». Разработанные методики являются экспрессными, точными, нетрудоемкими и достоверными.

Внедрение результатов диссертационного исследования Кашфуллиной Камиллы Ильдаровны способствует повышению объективности анализа лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов на их основе.

Члены комиссии:

Зав. производственной лаборатории



Мельникова Е.Н.

Технолог



Ахметшина Р.А.

Технолог



Германова У.В.

450521, Республика Башкортостан, Уфимский район, деревня Шмидтово, ул Кирова, д. 1

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Шалфея степного листа

ФС 42-----

Salviae stepposae foliae

Вводится впервые

Срок введения установлен

«__»_____20__ года

Срок действия до

«__»_____20__ года

Требования фармакопейной статьи распространяются на собранные в фазу цветения и высушенные листья дикорастущего многолетнего растения шалфея степного – *Salvia stepposa* Des.- Shost., сем. губоцветных – *Lamiaceae*.

| Показатели качества | Методы испытания | Нормы |
|---|--|--|
| 1 | 2 | 3 |
| <i>Внешние признаки</i> | Визуальный (с помощью микроскопа и лупы), органолептический, ГФ XV | Соответствует ФС |
| <i>Микроскопия</i> | ГФ XV | Соответствует ФС |
| <i>Качественные реакции</i> | ТСХ | Соответствует ФС Соответствует ФС Соответствует ФС |
| <i>Числовые показатели:</i> Содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид Влажность | Дифференциальная спектрофотометрия ОФС.1.5.3.0007.15 | Не менее 1,5 % не более 10% |

| | | |
|--|--------------------------------|---|
| Зола общей | ОФС.1.5.3.0005.15 | не более 10% |
| Зола, нерастворимой в HCl | ОФС.1.5.3.0004.15 | не более 5% |
| Сырье, изменившее окраску | ОФС.1.5.3.0004.15 | не более 3% |
| Органическая примесь | ОФС.1.5.3.0004.15 | не более 2,0% |
| Минеральная примесь | ОФС.1.5.3.0004.15 | не более 1,0% |
| Измельченность измельченного сырья: частиц, не проходящих сквозь сито d=5 мм | ОФС.1.5.3.0004.15 | не более 5% |
| частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм | | не более 5% |
| Измельченность порошка сырья: частиц, не проходящих сквозь сито d=2 мм | | не более 5% |
| частиц, проходящих сквозь сито d=0,18 мм | | не более 5% |
| Микробиологическая Чистота | ОФС 42-0016-04, ОФС 42-0067-07 | Соответствует категории 4А |
| Упаковка | ОФС 1.1.0025.18 | Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные; в мешки полипропиленовые из пропилена окрашенного; по 20 кг в мешки тканевые продуктовые. Фасованное сырье упаковывается по 50,0 г в бумажный пакет и картонную коробку. Фильтр-пакеты упаковываются в специальную бумагу по 2,0 г и по 20 фильтр-пакетов в картонную упаковку. |
| Маркировка | ОФС 1.1.0025.18. | Соответствует ФС |

| | | |
|--------------------------|------------------|--|
| Транспортирование | ОФС 1.1.0025.18. | Соответствует ФС |
| Хранение | ОФС.1.1.0011.15 | В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25°C |
| Срок годности | | 3 года |
| Фармакологическая группа | | Противовоспалительное и антиоксидантное средство растительного происхождения |

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Листья простые, цельные. Нижние листья длиной 7-8 см, шириной 3-3,5 см продолговато-яйцевидные, с сердцевидным основанием, по краю городчатые, сверху с единичными волосками по жилкам, снизу волосистые, длинночерешковые. Листья, располагающиеся выше, 8-9 см в длину и 5-6 см в ширину, следующая пара листьев чуть меньше в длину 4,5-5 см и 3-4 см в ширину. Листья - зеленые с верхней стороны, светло-зеленые с нижней. Жилкование перисто-краевое. Волоски располагаются по всей поверхности с обеих сторон листа и по краю. Сырье имеет характерный запах.

Измельченное сырье. При рассмотрении под лупой (10×) или стереомикроскопа (16×) кусочки листьев различной формы и размера, проходящие сквозь сито размером 5 мм, цвет кусочков листьев светло-зеленый и зеленый. Запах характерный.

Порошок. Представляет собой кусочки листьев и черешков, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. При рассмотрении под лупой (10×) или стереомикроскопа (16×) видны кусочки листьев светло-зеленого и зеленого цвета. Запах характерный.

Микроскопия. *Цельное сырье.* При рассмотрении листьев с поверхности видны клетки эпидермиса обеих сторон со слабоизвилистыми стенками. Устьица окружены двумя околоустьичными клетками, смежные стенки которых располагаются перпендикулярно устьичной щели (диацильный тип),

встречаются на обеих сторонах листа. На поверхности встречаются эфиромасличные железки типа губоцветных, состоящие из восьми выделительных клеток, и несколько типов волосков: простые одноклеточные, простые многоклеточные, головчатые на одноклеточной ножке с одноклеточной головкой и головчатые на многоклеточной ножке с одноклеточной головкой (рис. 1-4).

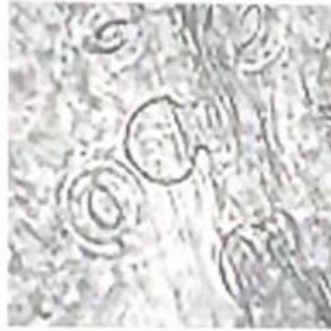


Рис. 1. Верхняя сторона листа с диатизитным устьичным аппаратом. Увел. 20x40



Рис. 2. Нижняя сторона листа простыми одноклеточными волосками. Увел. 20x40



Рис. 3. Головчатые волоски на нижней поверхности листа. Увел. 20x40

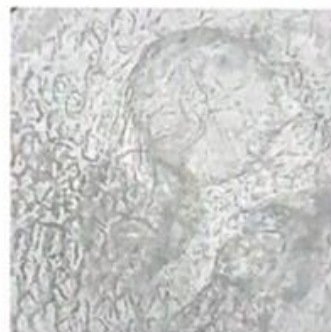


Рис. 4. Эфиромасличная железка на поверхности листа. Увел. 20x40

Измельченное сырье, порошок. Представляет собой фрагменты эпидермиса верхней и нижней стороны листа, фрагменты жилок листа, сопровождающихся эфиромасличными железками типа губоцветных,

состоящие из восьми выделительных клеток, и несколько типов волосков: простые одноклеточные, простые многоклеточные, головчатые на одноклеточной ножке с одноклеточной головкой и головчатые на многоклеточной ножке с одноклеточной головкой. Тип устьичного аппарата – диацитный.

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография. На линию старта пластинки Sorbfil ПТСХ-АФ-А 100x150 мм при помощи капилляра наносят 0,02 мл подготовленного извлечения («Количественное определение флавоноидов») и 0,02 мл 0,05% растворов СО лютеолин-7-глюкозида, рутина, гиперозида, кофейной и хрологеновой кислот. Пластинку помещают в насыщенную камеру в системе этилацетат - ЛУК - вода (15:2:2)

Хроматографирование осуществляется восходящим способом. После прохождения растворителя около 10 см, пластинку вынимают и подсушивают. Просматривают полученную хроматограмму в УФ-свете при 365 нм. На хроматограмме обнаруживаются не менее 9 основных зон, 5 из которых соответствуют по уровню расположения пятен и окраске стандартным образцам: хрологеновой кислоты, кофейной кислоты, гиперозида, рутина и лютеолин-7-глюкозида. Далее следует обработка хроматограммы 1% спиртовым раствором алюминия хлорида с последующим видимым изменением или усилением окраски полученных адсорбционных зон. Обнаружение дополнительных зон адсорбции допустимо

Примечание:

1. Подготовка пластинок. Пластинки вырезают размером 10×10 см, наносят линию старта на расстоянии 1 см от края и перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100-105°C в течение 1 часа.
2. Приготовление системы растворителей для хроматографирования. Для проведения ТСХ-анализа рекомендуется система растворителей: этилацетат-

ЛУК-вода (15:2:2). Система используется свежеприготовленная. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей не менее 1 часа.

3. Приготовление растворов сравнения.

Раствор СО лютеолин-7-гликозида: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца лютеолин-7-гликозида, предварительно высушенного при температуре 130-140°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

Раствор СО рутина: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135 °С в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

Раствор СО гиперозида: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135 °С в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

Раствор СО хлорогеновой кислоты: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца хлорогеновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

Раствор СО кофейной кислоты: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца кофейной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

4. Приготовление проявляющего раствора (1% спиртового алюминия хлорида): около 1,92 г (точная навеска) алюминия хлорида $6(\text{H}_2\text{O})$, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - не более 10%.

Зола общая. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - не более 10%.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - 5%.

Измельченность сырья. *Измельченное сырье* - частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 5 мм не более 5%, частиц, проходящих сквозь сито $d=0,5$ мм не более 5%.

Порошок - измельченных частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм - не более 5%; измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,18 мм - не более 5%.

Посторонние примеси.

Сырье, изменившее окраску (потемневшие и пожелтевшие). *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 3 %.

Органическая примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - не более 2,0%.

Минеральная примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - не более 1,0%.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

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

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

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

Количественное определение. *Цельное сырье, измельченное сырье* – содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид не менее 0,8 %.

Приготовление раствора стандартного образца (СО) лютеолин-7-гликозида. Около 0,05 г (точная навеска) СО лютеолин-7-гликозида, высушенного при температуре 100-105°C, растворяют при нагревании на водяной бане в 85 мл спирта этилового 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора тем же растворителем после охлаждения до метки. Срок годности раствора 1 месяц.

Приготовление раствора алюминия хлорида 1%.

1,8 г алюминия хлорида 6- водного (ГОСТ 3759-75) растворяют в спирте этиловом 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора этим же растворителем до метки. Срок годности раствора 1 месяц при хранении в хорошо закупоренной таре.

1.0 г (точная навеска) сырья, измельченного до 2 мм, помещают в колбу на 250 мл, прибавляют 200 мл 60 % этилового спирта, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане 30 минут. Затем извлечение фильтруют и доводят в мерной колбе до 200 мл этиловым спиртом концентрации 60% (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2 мл раствора А, прибавляют 5 мл 1% спиртового раствора хлорида алюминия, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты и доводят раствор до метки 60% этиловым спиртом (раствор В). Оптическую плотность полученного раствора измеряют через 30 минут на спектрофотометре при длине волны 394 нм в кювете толщиной слоя 1 см. Раствором сравнения служит следующий раствор: 2 мл

раствора А, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты и доведенный 60% этиловым спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов (X) в пересчете на лютеолин-7-гликозид и абсолютно сухое сырье (в %) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A * 200 * 25 * 100 * 100 * 0,05 * 1}{A_0 * m * 2 * (100 - W) * 100 * 25}$$

где

A – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

A₀ – оптическая плотность раствора Б СО лютеолин-7-гликозида;

m – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид также можно вычислить с использованием удельного показателя поглощения комплекса лютеолин-7-гликозид с алюминия хлоридом по формуле:

$$X = \frac{A * 200 * 100 * 25}{E * m * 2 * (100 - W)}$$

где

A – оптическая плотность исследуемого раствора (раствор В);

E – удельный показатель поглощения лютеолин-7-гликозид с хлоридом алюминия, равный 400;

m – навеска сырья, г;

W – потеря в массе сырья при высушивании, %.

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

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

Срок годности. 3 года

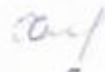
Фармакологическая группа. Противовоспалительное и антиоксидантное средство растительного происхождения

Зав. кафедрой фармакогнозии
и ботаники
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России,
профессор, д. фарм. н.



Н.В. Кудашкина
« 6 » 10 2025г.

Профессор кафедры фармакогнозии
и ботаники
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России,
д. фарм. н.



С.Р. Хасанова
« 6 » 10 2025г.

Аспирант кафедры фармакогнозии
и ботаники
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России,



К.И. Кашфуллина
« 6 » 10 2025г.