

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ХАСАНОВА СВЕТЛАНА РАШИТОВНА

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
СОЗДАНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ С АНТИОКСИДАНТНОЙ
АКТИВНОСТЬЮ**

14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
доктора фармацевтических наук

Научный консультант:

Кудашкина Наталья Владимировна
доктор фармацевтических наук,
профессор

УФА 2016

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	7
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	20
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
Современные исследования применения антиоксидантов и перспективы использования растительных препаратов с антиоксидантной активностью в терапии сердечно-сосудистых заболеваний.....	20
1.1. Современные исследования по применению антиоксидантов	20
1.2. Современная ситуация распространенности заболеваний сердечно-сосудистой системы	30
1.3. Использование лекарственных растительных средств для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний на современном этапе.....	36
1.4. Растения рода <i>Crataegus</i> L. - потенциальный и перспективный источник биологически активных веществ.....	44
Выводы по главе 1	63
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	64
2.1. Объекты исследования.....	64
2.2. Методы исследования.....	66
2.2.1. Определение подлинности сырья.....	66
2.2.2. Методы определения качества растительного сырья.....	67
2.2.3. Методы фитохимического анализа.....	68
2.2.3.1. Методы качественного анализа биологически активных веществ.....	68
2.2.3.2. Методы количественного анализа биологически активных веществ.....	80
2.2.4. Методы исследования биологической активности.....	82
2.2.5. Методы технологических исследований.....	87
2.2.6. Методы статистической обработки результатов исследований.....	88
ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА МЕТОДОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ ПО СОЗДАНИЮ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ.....	89

3.1. Разработка методологической схемы и теоретическое обоснование составов сборов	89
3.2. Экспериментальное обоснование составов сборов.....	99
Выводы к главе 3.....	121
ГЛАВА 4. ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИСТЬЕВ БОЯРЫШНИКА КРОВАВО-КРАСНОГО (<i>CRATAEGUS SANGUINEA</i> PALL.)..	
4.1. Морфолого-анатомическое исследование листьев боярышника кроваво-красного.....	122
4.2. Изучение химического состава, выделение и установление структуры биологически активных веществ листьев боярышника кроваво-красного.....	126
4.2.1. Исследование качественного состава хроматографическими методами....	130
4.2.2. Выделение и идентификация биологически активных веществ из листьев боярышника кроваво-красного.....	152
Выводы к главе 4.....	183
ГЛАВА 5. ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СБОРОВ «КАРДИОФИТ-ИБС» И «АНГИОФИТ-НМК».....	
5.1. Морфолого-анатомическое исследование сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК».....	185
5.2. Фитохимическое изучение сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК».....	197
Выводы к главе 5.....	212
ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СТАНДАРТИЗАЦИИ И НОРМАТИВНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ НА ЛИСТЬЯ БОЯРЫШНИКА КРОВАВО-КРАСНОГО, СБОРЫ «КАРДИОФИТ-ИБС» И «АНГИОФИТ-НМК».....	
6.1. Количественный анализ биологически активных веществ в листьях боярышника кроваво-красного, сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»	213
6.2. Разработка методик количественного определения флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного, сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК».....	219

6.3. Разработка нормативной документации на листья боярышника кроваво-красного, сборы «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК».....	246
Выводы к главе 6.....	270
ГЛАВА 7. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ	
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НА ОСНОВЕ СБОРОВ И ЛИСТЬЕВ	
БОЯРЫШНИКА КРОВАВО-КРАСНОГО.....	272
7.1. Изучение оптимальных условий получения водных извлечений	
из сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК».....	272
7.2. Разработка жидких экстрактов из сборов «Кардиофит-ИБС»	
и «Ангиофит-НМК».....	278
7.3. Разработка густого экстракта из листьев боярышника кроваво-красного....	288
Выводы к главе 7.....	297
ГЛАВА 8. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СБОРОВ	
И ЛИСТЬЕВ БОЯРЫШНИКА КРОВАВО-КРАСНОГО	298
8.1. Определение острой токсичности сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК»	
и листьев боярышника кроваво-красного.....	298
8.2. Сравнительное изучение антиоксидантной активности сборов «Кардиофит-ИБС»,	
«Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного	299
8.3. Определение биологических свойств сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-	
НМК» и листьев боярышника кроваво-красного	303
Выводы к главе 8	315
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	316
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	321
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	362

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АГ - артериальная гипертензия
- АОА - антиоксидантная активность
- АСК - ацетилсалициловая кислота
- АФК - активные формы кислорода
- БАБ - β -адреноблокаторы
- БАВ - биологически активные вещества
- БАД - биологически активная добавка
- БК – боярышник кроваво-красный
- БKK - блокаторы кальциевых каналов
- БСК - болезни системы кровообращения
- БХ - бумажная хроматография
- ВИЧ - вирус иммунодефицита
- ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения
- ВФС - временная фармакопейная статья
- ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография
- ВЭТСХ – высокоэффективная тонкослойная хроматография
- ГБ - гипертоническая болезнь
- ГОСТ - Государственный отраслевой стандарт
- ГСО - Государственный стандартный образец
- ГФ - Государственная фармакопея
- ГХ/МС - газовая хроматография масс-спектрометрия
- ДЗП - диагностически-значимые признаки
- ДМСО - диметилсульфоксид
- ДТП - дорожно-транспортные происшествия
- ЖКТ - желудочно-кишечный тракт
- ИБС - ишемическая болезнь сердца
- ИМ - инфаркт миокарда
- ИК - инфракрасный
- ИИ - ишемический инсульт

иАПФ - ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента

ЛРС - лекарственное растительное сырье

ЛП - лекарственный препарат

ЛПНП - липопротеиды низкой плотности

ЛУК - ледяная уксусная кислота

МК - муравьиная кислота

НМК - нарушения мозгового кровообращения

ОИМ - острый инфаркт миокарда

ОНМК - острое нарушение мозгового кровообращения

ПОЛ - перекисное окисление липидов

РСО - рабочий стандартный образец

РФ - Российская Федерация

СО – стандартный образец

ССЗ - сердечно-сосудистые заболевания

ССС - сердечно-сосудистая система

ТСХ - тонкослойная хроматография

УФ - ультрафиолетовый

ФКК - фенолкарбоновые кислоты

ФС - фармакопейная статья

ФСП - фармакопейная статья предприятия

ХОБЛ - хроническая обструктивная болезнь легких

ХСН - хроническая сердечная недостаточность

ЦВБ - цереброваскулярная болезнь

ЯМР – ядерно-магнитный резонанс

CARE - Cholesterol and Recurrent Events

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В настоящее время большое внимание уделяется исследованию антиоксидантных свойств лекарственного растительного сырья и препаратов на их основе. Одной из изученных групп растительных антиоксидантов являются полифенольные соединения. Наиболее исследованы антиоксидантные свойства флавоноидов, которыми и объясняется широкий спектр их биологического действия. В связи с перспективами использования данного класса соединений, наблюдается значительный интерес к исследованию их биологических свойств [4, 87, 103, 113]. Доказано, что флавоноиды являются «ловушками» свободных радикалов и предотвращают перекисное окисление липидов. Также флавоноиды способны активировать природные механизмы клеточной защиты от окислительного стресса через экспрессию внутриклеточных ферментов. Исследованы взаимосвязи антиоксидантных свойств и строение флавоноидных структур. Экспериментальные данные свидетельствуют о корреляции между антиоксидантным действием и количеством фенольных гидроксильных групп в их молекулах. На основании многочисленных экспериментальных исследований установлено антиоксидантное действие более 50 выделенных флавоноидов [103, 178, 216]. Однако, низкая биодоступность большинства флавоноидных соединений затрудняет их использование в чистом виде [216, 375].

Среди наиболее изученных на сегодняшний день свободнорадикальных патологий являются заболевания сердечно-сосудистой системы, которые по данным Всемирной организации здравоохранения занимают одно из ведущих мест по распространенности и первое место по числу смертности среди населения [167, 264]. Имеющийся клинический опыт и результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о важной роли оксидантного стресса в формировании и прогрессировании сердечно-сосудистой патологии, необходимости ранней, плановой и комплексной антиоксидантной коррекции [43, 46, 311].

Результаты отечественных и зарубежных научных работ доказывают целесообразность использования растительных антиоксидантных препаратов в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний [82, 159, 272, 293, 351].

Расширение ассортимента антиоксидантных лекарственных средств на основе отечественной растительной сырьевой базы является одной из актуальных задач современной фармации. Возможным решением данной задачи является внедрение в практику новых сборов и новых видов лекарственного растительного сырья уже изученных растений. Одним из таких видов являются листья боярышника кроваво-красного. Лекарственные препараты из листьев боярышника существуют на отечественном фармацевтическом рынке [265], однако нормативной документации на этот вид сырья отсутствует.

Таким образом, создание методологических подходов к разработке комплексных фитопрепаратов с антиоксидантной активностью для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний является актуальным.

Степень разработанности проблемы. К настоящему времени опубликовано достаточно большое количество отечественных и зарубежных фундаментальных исследований, посвященных вопросам распространенности сердечно-сосудистых заболеваний и использованию антиоксидантов в их терапии (Чучалин А.Г., Бойцов С.А., Скворцова В.И., Верещагин Н.В., Суслина З.А., Гусев Е.И., Акимов А.Г., Богословская Е.Н., Сумин С.А., Полумисков В.Ю., Букин А.К., Голиков А.П., Михин В.П., Ашихмин Я.И., Инчина И.В., Смирнов М.Д., Котляров А.А., Косарев В.В., Tinkel J., Arora A., Clark. W.L. и др.). В последнее десятилетие учеными повышенное внимание уделялось исследованию природных антиоксидантов (Кучин А.В., Дорожко А.И., Полосьянц О.Б., Васильева О.В, Сазонова Т.Г., Bors W., Cao G., Hu B., Rice-Evans C.A., Ahlemeyer B., Yunker V., Nuhne R., Kueglstein и др.). Вопросам использования лекарственного растительного сырья и препаратам на их основе при данной патологии посвятили свои научные исследования Ангарская М.А., Анцишкина М.А., Барнаулов О.Д., Евдокимова О.В., Корсун В.Ф., Куркин В.А., Лазуко С.С., Красильников А.А., Хуткина Г.А., Марьин

А.А., Пастушенков Л.В., Лесиовская Е.Е., Кашникова М.В., Сафонова М.Ю., Саканян Е.И., Хаятулла Н.М., Чистяков А.Г. и др.

Теоретическую основу диссертационного исследования составляют труды ученых, рассматривающих вопросы разработки новых лекарственных сборов, в частности таких, как Пашинский В.Г., Соколов С.Я., Корсун В.Ф., Барнаулов О.Д., Куркин В.А., Самылина И.А., Лесиовская Е.Е. и др.

Проблемам фармакогностического исследования новых видов лекарственного растительного сырья и средств растительного происхождения посвятили научные работы такие отечественные авторы, как Самылина И.А., Куркин В.А., Фурса Н.С., Челомбитко В.А., Плеханова Т.И., Ханина М.А., Бубенчикова В.Н., Даргаева Т.Д., Багирова В.Л., Беликов В.В., Георгиевский В.П., Гончаров Н.Ф., Потанина О.Г., Киселева Т.Л. и др.

Разработка методов стандартизации ЛРС и фитопрепаратов на их основе отражена в работах известных отечественных авторов (Самылина И.А., Куркин В.А., Саканян Е.И., Киселева Т.Л., Сорокина А.А., Бубенчикова В.Н. и др.).

Анализ монографий и периодической литературы по теме диссертации показал, что научные публикации по вопросам разработки методологических подходов к созданию антиоксидантных препаратов на основе из лекарственных растений и многокомпонентных сборов практически отсутствуют, а отдельные проблемы рассматривали Ивашев М.Н., Плотников М.Б., работы которых не ставят целью проведение ее комплексного анализа и не позволяют сформировать системно-целостное представление о проблеме исследования. Вместе с тем, современные условия предполагают разработку новых научных подходов к созданию новых фитопрепаратов.

Таким образом, недостаточная степень научной разработанности проблемы, несомненная практическая значимость для отечественной фармации и медицины обусловили выбор темы диссертационного исследования и определили его цель.

Цели и задачи. Целью диссертационной работы явилось теоретическое и экспериментальное обоснование создания и стандартизации лекарственных рас-

тительных средств с антиоксидантной активностью для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Для решения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- обобщить современные данные по использованию антиоксидантов, разработке препаратов на основе природных антиоксидантов лекарственных растений, исследованию химического состава и фармакологических свойств различных видов сырья боярышника;
- разработать методологические подходы к созданию растительных препаратов с антиоксидантной активностью на основе лекарственного растительного сырья;
- провести скрининг по выявлению антиоксидантных свойств лекарственного растительного сырья для разработки сборов для профилактики и комплексного лечения сердечно-сосудистых заболеваний;
- провести морфолого-анатомическое исследование нового вида лекарственного растительного сырья - листьев боярышника кроваво-красного из флоры Республики Башкортостан;
- провести изучение химического состава листьев боярышника кроваво-красного;
- провести комплексное фармакогностическое исследование разработанных сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»;
- определить критерии подлинности и качества сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного, необходимые для стандартизации, и разработать методики качественного и количественного анализа;
- провести технологические исследования по разработке лекарственных форм на основе сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного;

- изучить токсико-фармакологические свойства сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного;
- разработать проекты нормативной документации – проект ФС на листья боярышника кроваво-красного и проекты ФСП на сборы «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и лекарственные формы на их основе.

Научная новизна. Разработаны методологические подходы к созданию новых растительных средств на основе природных антиоксидантов для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Проведен фармакологический скрининг антиоксидантной активности 25 видов лекарственного растительного сырья и 145 различных сочетаний на их основе. Теоретически и экспериментально обоснованы составы двух новых сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК». Проведено комплексное фармакогностическое изучение сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного.

С использованием современных физико-химических методов анализа (ВЭТСХ, ГХ/МС, ВЭЖХ, ЯМР-, УФ- и ИК-спектроскопия) изучен компонентный состав биологически активных веществ листьев боярышника кроваво-красного и идентифицировано 70 соединений различной природы. С использованием колоночной хроматографии из листьев боярышника кроваво-красного выделено и с применением ЯМР-, ИК-, УФ-спектроскопии установлена структура 17 фенольных веществ. Впервые в листьях боярышника кроваво-красного обнаружены изовитексин, физетин, дигидрокверцетин, нарингин, гесперидин, кофейная и хлорогеновая кислоты. В листьях боярышника кроваво-красного методом ВЭЖХ идентифицированы 5 флавоноидов, из которых впервые байкалеин. Методом ГХ/МС в листьях боярышника кроваво-красного впервые идентифицированы 6 веществ, 4 из них - соединения фенольной природы: кумаран, α -гидрохинон, пирокатехин и хинная кислота. Изучен компонентный состав эфирного масла листьев боярышника кроваво-красного и идентифицировано 18 соединений. В липофильной фракции листьев боярышника кроваво-красного идентифицированы 19 веществ.

Впервые методами ВЭЖХ и ГЖХ установлен состав полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного.

Изучена динамика накопления основных групп БАВ листьев боярышника кроваво-красного в различные фазы вегетации растения и определены сроки их заготовки.

Исследован химический состав сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного с использованием фитохимических, хроматографических (тонкослойная хроматография (ТСХ) и высокоэффективная тонкослойная хроматография (ВЭТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография с масс-спектрометрией (ГХ/МС), спектроскопических методов анализа (спектроскопия ядерно-магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопия), УФ- и ИК-спектроскопия). В сборах «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьях боярышника кроваво-красного установлено содержание флавоноидов, органических кислот, кумаринов, суммы дубильных соединений, сапонинов, аскорбиновой кислоты, полисахаридов, каротиноидов, эфирных масел, аминокислот, макро- и микроэлементов.

Изучены морфолого-анатомические признаки сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного и установлены диагностически-значимые признаки (ДЗП), которые предложены в качестве критерия стандартизации. При проведении микроскопического исследования листьев боярышника выявлены новые анатомо-диагностические признаки. Впервые проведено морфолого-анатомическое исследование черешка и прилистников боярышника кроваво-красного.

Разработаны критерии подлинности и показатели качества сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного и проведена их стандартизация.

Изучена острая токсичность разработанных сборов и листьев боярышника кроваво-красного и установлено, что они относятся к 4 классу «Вещества малотоксичные». В ходе фармакологических исследований впервые установлены антиоксидантные, кардиотропные, антикоагулянтные, антиагрегантные, антигипо-

кисические свойства сбора «Кардиофит-ИБС»; антиоксидантные, антикоагулянтные, антиагрегантные, антигипоксические свойства сбора «Ангиофит-НМК»; антиоксидантные, кардиотропные, антиаритмические свойства листьев боярышника кроваво-красного.

Исследованы оптимальные условия получения водных извлечений из сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК». Изучены оптимальные условия и разработана технология получения жидких экстрактов из сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и густого экстракта из листьев боярышника кроваво-красного.

Приоритет и новизна исследований подтверждена тремя патентами: «Сбор лекарственных растений для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообращения» (патент № 2338550); «Сбор лекарственных растений для профилактики и лечения ишемической болезни сердца» (патент № 2416424); «Способ местного лечения и профилактики основных стоматологических заболеваний у лиц пожилого и старческого возраста с применением жевательного субстрата» (патент № 2521373).

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты проведенных исследований позволили создать методологическую базу для совершенствования подходов к разработке новых растительных средств, а также расширить возможности целенаправленного поиска новых сырьевых источников получения эффективных отечественных антиоксидантных фитопрепаратов для использования в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Разработаны критерии подлинности и показатели качества сборов и листьев боярышника кроваво-красного, необходимые для их стандартизации.

Разработаны методики анализа: методика качественного анализа методом ТСХ, методика определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в листьях боярышника кроваво-красного, сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»; методика качества сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» по количественной оценке проявляемости анатомических диагностически-значимых признаков.

Проведенные исследования позволили обосновать возможность расширения отечественной номенклатуры официального сырья - листьев боярышника кроваво-красного и сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК». Результаты фармакологических испытаний подтвердили целесообразность разработанных методологических подходов к созданию новых растительных лекарственных средств для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Внедрение в практику. На основании проведенных исследований разработаны:

- Проект фармакопейной статьи предприятия «Сбор «Кардиофит-ИБС»;
- Проект фармакопейной статьи предприятия «Сбор «Ангиофит-НМК»;
- Проект фармакопейной статьи предприятия «Жидкий экстракт из сбора «Кардиофит-ИБС»;
- Проект фармакопейной статьи предприятия «Жидкий экстракт из сбора «Ангиофит-НМК»;
- Проект фармакопейной статьи предприятия «Густой экстракт боярышника кроваво-красного листьев»;
- Проект фармакопейной статьи предприятия «Боярышника кроваво-красного листа» (проходит экспертизу в ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России с целью включения в Государственную Фармакопею XIII издания);
- Инструкция по сбору и сушке листьев боярышника кроваво-красного.

Результаты исследований включены в монографии С.Р. Хасановой, Н.В. Кудашкиной [и др.] «Фитотерапия артериальной гипертензии» (2009), С.Р. Хасановой, Н.В. Кудашкиной [и др.] «Фитотерапия в гинекологии» (2008), С.Р. Хасановой, Н.В. Кудашкиной [и др.] «Фитотерапия инфекционных заболеваний» (2009), С.Р. Хасановой, Н.В. Кудашкиной [и др.] «Фитотерапия в урологии» (2011).

Результаты диссертации внедрены в работу ГКУЗ Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств Республики Башкортостан, ООО «Травы Башкирии», ООО «Фитоцентр Гордеева», в учебный процесс кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, фармацевтиче-

ской химии с курсами аналитической и токсикологической химии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России.

Методология и методы исследований. Методология построена на информационном поиске и анализе литературных данных по выбору перспективных объектов лекарственных растений, содержащих в качестве основных действующих веществ - биологические активные соединения – антиоксиданты, на основе которых после проведения скрининга антиоксидантной активности выбраны перспективные виды лекарственного растительного сырья; оценке изученности их химического состава, ресурсного потенциала, использования в научной и народной медицине; постановке цели и задач по разработке природных антиоксидантов на основе выбранных лекарственных растений и разработанных на их основе многокомпонентных сборов при сердечно-сосудистых заболеваниях; целенаправленном изучении их химического состава и фармакологических свойств; разработке НД на новые виды ЛРС, сборы; разработке фитопрепаратов и параметров их стандартизации; формулировании выводов, определяющих теоретические и практические рекомендации материалов диссертационной работы.

В качестве основных методов физического, химического и физико-химического анализа использованы методы БХ, ТСХ, ВЭТСХ, ВЭЖХ, ГЖХ, ЯМР-, УФ-, ИК-, хромато-масс-спектрокопии, спектрофотометрии, титриметрии, гравиметрии. Анатомические исследования проводились с применением микроскопов «Минимед-501» и «Микровизор» с вмонтированной цифровой камерой.

Положения, выносимые на защиту

- Результаты теоретического и экспериментального обоснования сбора «Кардиофит-ИБС» для профилактики и лечения ишемической болезни сердца и сбора «Ангиофит-НМК» для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообращения; результаты скрининга антиоксидантной активности различных видов лекарственного растительного сырья;
- результаты морфолого-анатомического исследования разработанных сборов и листьев боярышника кроваво-красного;

- результаты изучения химического состава сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного;
- исследования по разработке методик стандартизации исследуемых сборов и листьев боярышника кроваво-красного;
- результаты исследования биологической активности сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного по выявлению специфической активности;
- результаты фитохимических и технологических исследований по выбору лекарственной формы на основе разработанных сборов и листьев боярышника кроваво-красного.

Степень достоверности. Степень достоверности результатов исследований определяется достаточным объёмом выборок исследования. Для обработки результатов исследований использованы методы статистической обработки, что соответствует поставленным задачам. Статистическую обработку полученных результатов проводили стандартными методами вариационной статистики с применением программ «Excel 7.0», «Statistica 5.0», «Statistica 6.0». Для отрицания «нулевой» гипотезы использовали U-тест Манна-Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми при $P < 0,05$. Достоверность различий между выборками определялась по параметрическому t-критерию Стьюдента и непараметрическому U-критерию Манна - Уитни. Для разработанных методик стандартизации растительных средств проведена валидация. Выводы, сформулированные в диссертации, аргументированы и логически вытекают из результатов многоуровневого анализа значительного объёма выборок и результатов выполненных фармакогностических, технологических и фармакологических исследований.

Апробация результатов. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на научной конференции молодых ученых БГМУ (Уфа, 2003г.); научно-практической конференции, посвященной 25-летию фармацевтического факультета «Актуальные вопросы современной фармации и фармацевтического образования» (Уфа, 2006г.); научной конференции студентов и молодых ученых БГМУ (Уфа, 2007г.); XIV Российском национальном конгрессе «Человек

и лекарство» (Москва, 2007г.), Всероссийской конференции «Химия растительных веществ и органический синтез» (г. Сыктывкар, 2-5 июня 2009 г.), Российском национальном конгрессе кардиологов «Кардиология: реалии и перспективы» (г. Москва, 2009 г.), 74-й Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной Году молодежи в России и Году поддержки и развития молодежных инициатив в РБ (г. Уфа, 2009 г.), «Научный прорыв-2009», посвященной Году поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Республики (г. Уфа, 2009 г.), Республиканской конференции молодых ученых Республики Башкортостан с международным участием «Медицинская наука - 2009», посвященной Году поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Медицинского работника (г. Уфа, 2009 г.), Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной Году молодежи в России и Году поддержки и развития молодежных инициатив в РБ (г. Уфа, 2009 г.), конкурсе работ молодых ученых по программе «У.М.Н.И.К.» (г. Уфа, 2009 г.), Российской научно-практической конференции «Создание лекарственных средств на основе продуктов природного происхождения» (г. Пермь, 2010 г.), научно-методической конференции «Гаммермановские чтения - 2011» (г. Санкт-Петербург, 2011 г.), Всероссийской молодежной конференции «Фармакологическая коррекция процессов жизнедеятельности. Доклинические и клинические исследования новых лекарственных препаратов» (г. Уфа, июль 2012 г.), Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Итоги и перспективы молодежной медицинской и фармацевтической науки» (г. Уфа, ноябрь 2012 г.), Всероссийском конгрессе «Человек и лекарство» (г. Москва, апрель 2012 г.), Молодежном форуме Приволжского федерального округа «iВолга-2013» (Самарская область, июнь 2013 г.), Всероссийском конгрессе «Человек и лекарство» (г. Москва, апрель 2014 г.), научной конференции «Вопросы теоретической и практической медицины» (г. Уфа, 23-25 апреля 2014 г.).

Связь задач исследования с проблемами фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований

ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России по проблеме «Изыскание и изучение новых лекарственных средств». Номер госрегистрации 01200507996.

Публикации. Основные результаты диссертационного исследования отражены в 59 научных работах, в том числе в 21 статье в журналах, включенных в Перечень ВАК Министерства образования и науки РФ. Получены 3 патента на изобретение, изданы 4 монографии, подготовлены инструктивные письма, акты внедрения.

Личный вклад автора. Научные направления, постановка целей и задач, объекты исследования выбраны самим автором. Автор лично участвовал в планировании и проведении экспериментов. Все экспериментальные данные автором получены лично. Автором сформулированы подходы к усовершенствованию разработки новых растительных средств. В работах, выполненных в соавторстве, автором лично проведено научное обоснование и обобщены данные, интерпретированы результаты. Доля автора в сборе, анализе и обобщении результатов является определяющей.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация соответствует паспорту специальности 14.04.02.- фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Работа представляет итог исследований, выполненный автором в творческом сотрудничестве с кафедрами фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии, фармацевтической технологии с курсом биотехнологии, фармакологии № 2, микробиологии с курсом иммунологии, лабораторией ЦНИЛ ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, ФГБУ РАН «Институт органической химии УНЦ РАН», кафедрой фармации ФПК и ППС ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (г.Томск), ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет».

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 362 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, 6 экспериментальных глав, общих выводов, списка литературы и приложений. В работе содержатся 87 таблиц, 112 рисунков.

Список цитируемой литературы включает 383 библиографических источников, из которых 113 на иностранных языках.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Современные исследования применения антиоксидантов и перспективы использования растительных препаратов с антиоксидантной активностью в терапии сердечно-сосудистых заболеваний

1.1. Современные исследования по применению антиоксидантов

В настоящее время большое внимание уделяется использованию антиоксидантов для профилактики и лечения целого ряда заболеваний. Это обусловлено тем, что многие жизненно важные метаболические и физиологические процессы, протекающие в организме, тесно связаны со свободно-радикальным окислением. Снижение естественной антиоксидантной активности вызывает в организме значительные патологические изменения, которые являются причиной многих заболеваний, в том числе ишемических и гипоксических поражений сердечно-сосудистой системы (ССС) [25, 74, 129, 146, 179, 183, 199].

Физиологическая антиоксидантная система, существующая в организме, необходима для сохранения клеточных структур в условиях стресса и гипоксии. Как известно, про- и антиоксидантные системы организма находятся в состоянии динамического равновесия, что поддерживается определенной организацией плазмменных и клеточных липидов, динамической системой обмена мембранных фосфолипидов и холестерина, определяющих исходный уровень жесткости и окисляемости клеточных мембран. Антиоксидантная система представляет собой совокупную иерархию защитных механизмов клеток, тканей, органов и систем, направленных на сохранение и поддержание в пределах нормы реакций организма, в том числе и в условиях стресса и ишемии. Она включает систему внутриклеточных антиокислительных ферментов (каталазу, супероксиддисмутазу, глутатионпероксидазу, фосфолипидглутатионпероксидазу и глутатионредуктазу), противодействующих окислительному стрессу и обезвреживающих активные формы кислорода (АФК) [227]. В норме АФК являются естественными продуктами сво-

бодно-радикального окисления, которые участвуют в ключевых регуляторных механизмах живой клетки, в частности, на начальных этапах внутриклеточной редокс-сигналикации, которая является многокомпонентной системой передачи внешнего сигнала к клеточному ядру с последующей активацией трансляции и синтеза белков. При нарушении равновесия антиоксидантной системы АФК становятся основным повреждающим фактором окислительного стресса. При патологических состояниях чрезмерное накопление АФК сопровождается разрушением многих компонентов антирадикальной защиты, особенно белковой природы, что ведет к дальнейшему повышению уровня АФК (рисунок 1.4.1) [185]. Чрезмерная активация свободнорадикальных процессов влечет за собой целый каскад негативных реакций и патологических процессов, лежащих в основе ряда заболеваний. Среди наиболее изученных на сегодняшний день свободнорадикальных патологий оказываются атеросклероз, ишемическая болезнь сердца (ИБС) и артериальная гипертензия, в развитии которых большое значение приобретает неконтролируемая генерация пероксидов. Исходная активация свободнорадикальных процессов при атеросклерозе обусловлена снижением активности естественных антиоксидантных ферментов и дефицитом природных антиоксидантов, а также наличием дислипидемии, при которой содержащиеся в высокой концентрации в крови атерогенные липиды служат легким субстратом для перекисного окисления [46].

Особенно чувствителен к гиперпродукции свободных радикалов головной мозг и в условиях ишемии свободные радикалы не достигают нейрональных структур, в которых обнаруживается наибольшее содержание фосфолипидов, чем во всем организме. Головной мозг - главный субстрат перекисного окисления, активирующегося при ишемии [62, 227]. Так как мозг утилизирует до 95% потребляемого организмом кислорода, поэтому окислительные процессы, происходящие в нем, отличаются высокой интенсивностью. Активность ферментных антиоксидантных систем в это же время в мозге значительно ниже, чем в других тканях. При возникновении ишемии и гипоксии головного мозга развивается каскад патобиохимических реакций, что приводит к его необратимому повреждению. Это

провоцирует выброс аспартата и глутамата, что приводит к массивному выбросу кальция в клетку с последующей активацией фосфолипаз и протеаз и нарушению целостности клеточных мембран и органелл, что усиливает энергетические расстройства.

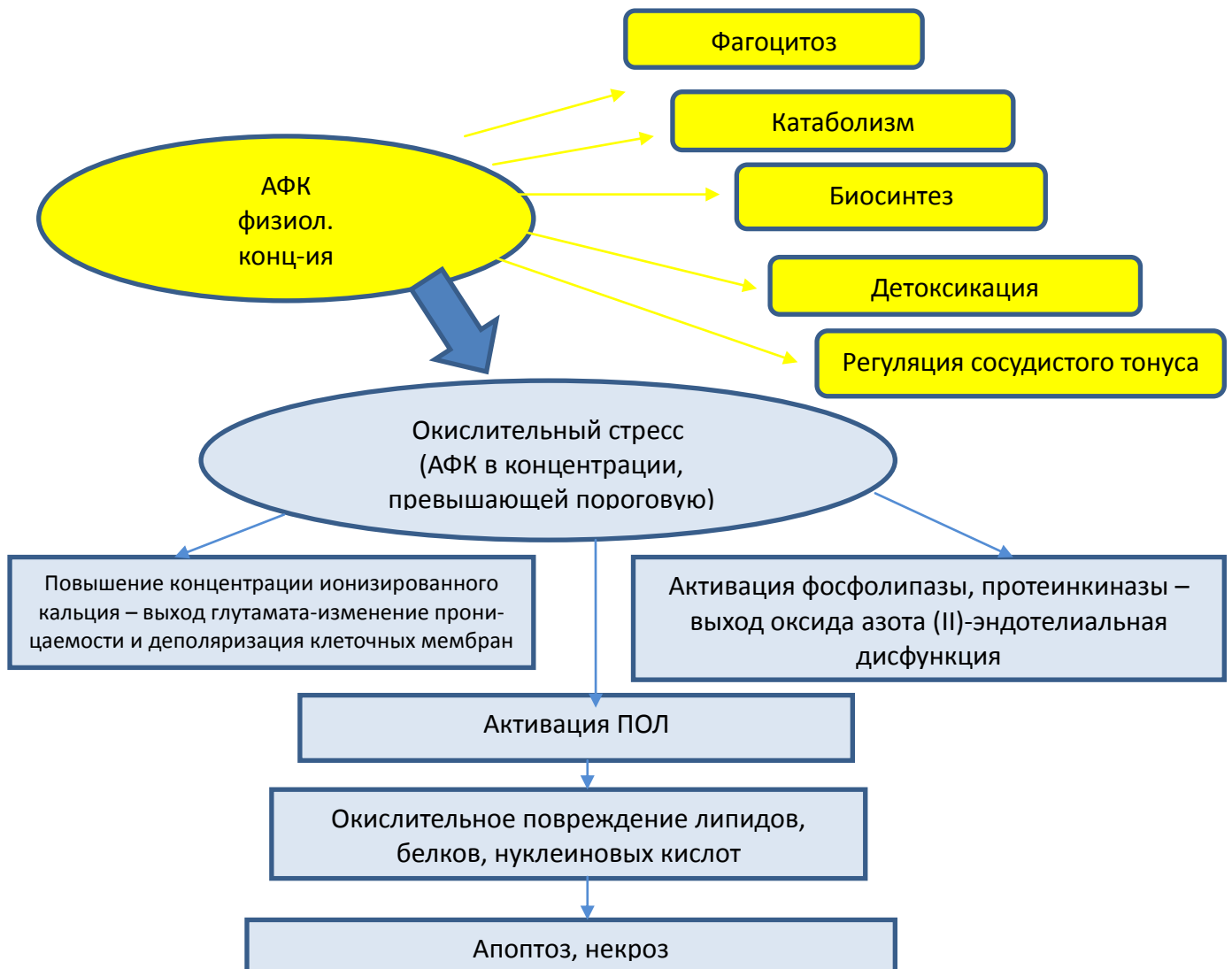


Рисунок 1.1.1. Схема влияния АФК в различных концентрациях на различные биохимические процессы в человеческом организме.

Это приводит к дисбалансу антиоксидантной и прооксидантной систем, что нарушает деятельность основных антиоксидантных ферментов. Формируется отек мозга и повышается внутричерепное давление, которые усиливают гипоксию нейронов, нарушения гемодинамики и ликвородинамики [227].

При стенокардии активация перекисных процессов провоцирует частые ангиальные приступы, вызывающие гиперкатехоламинемия, стимулирующие липолиз, в результате которых увеличивается содержание свободных жирных кислот, являющихся доступным субстратом для окисления. При гипоксии (ишемии) миокарда окислительные процессы в митохондриях кардиомиоцитов нарушаются (как бы не доходят до конца), в результате чего накапливаются промежуточные метаболиты цикла Кребса, крайне легко подверженные восстановлению с образованием свободных радикалов и перекисных соединений, угнетающих систему антиоксидантной защиты. В итоге создается парадоксальная ситуация - уменьшение кислорода в клетке приводит к увеличению кислородных радикалов. Развивающаяся реперфузия миокарда после каждого эпизода транзиторной ишемии также сопровождается значительной активацией (в сотни раз) свободнорадикальных процессов и выбросом липопероксидов в кровоток, что приводит к выраженной активации процессов свободнорадикального окисления и следующей за ней реакцией оксидантного стресса тканей и систем организма [46].

В крупных эпидемиологических исследованиях была установлена связь между низким содержанием естественных антиоксидантов в организме и достоверным увеличением риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Экспериментальное изучение процесса атерогенеза установило роль свободнорадикального окисления в процессе формирования атеросклеротической бляшки. В литературе представлено множество исследований - от изучения химии и энзимологии процесса окисления липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) *in vitro*, биологических эффектов окисленного ЛПНП на культуре клеток и у лабораторных животных до определения роли антиоксидантов при атеросклерозе у человека в крупных многоцентровых исследованиях [292].

Модифицированные ЛПНП вызывают повреждение сосудистого эндотелия, запуская целый каскад патологических реакций со стороны сосудистой стенки. Кроме того, в атерогенезе могут играть роль такие факторы, связанные с антиоксидантной системой, как повреждение свободными радикалами эндотелия сосудов, нарушение гемостаза, смещение его в сторону гиперкоагуляции, изменение

подвижности тромбоцитов, иммунные нарушения. Немаловажным является также усиленное развитие артериальной гипертензии – одного из основных факторов риска. Снижение синтеза эндогенного оксида азота за счет его связывания вторичными липидными радикалами, возникающее при оксидантном стрессе, уменьшает эндотелий-зависимую вазодилатацию. В данных условиях происходит не только повышение артериального давления, но и снижается активность многих гипотензивных и антиангинальных препаратов [46, 197, 325, 363].

Антиоксидантная система включает систему внутриклеточных антиокислительных ферментов (каталазу, супероксиддисмутазу, глутатионпероксидазу, фосфолипидглутатионпероксидазу и глутатионредуктазу), противодействующих окислительному стрессу и обезвреживающих АФК [227]. Наряду с внутриклеточными антиокислительными ферментами к числу высокомолекулярных антиоксидантов следует отнести также сывороточный альбумин, гаптоглобин, трансферрин, ферритин, связывающие высокоактивные ионы, но слабо проникающие через мембраны. Установлено, что перекисное окисление липидов (ПОЛ) в фосфолипидных структурах биологических мембран в условиях ишемии плохо устраняется внутриклеточными ферментами [9, 13, 31, 119, 157, 195, 227, 314, 327, 331, 348, 354].

Другая группа веществ, используемых клетками нашего организма для защиты от окислительного стресса - это естественные (природные) антиоксиданты, поступающие с пищей, к которым относятся гидрохиноны, нафтохиноны, убихиноны, пирокатехины, пирогаллол, гваякол, нафтолы, эфиры галловой кислоты, флавоноиды, фенилпропаноиды, флаволигнаны, токоферолы, каротиноиды, витамины РР, С, В₂, пантотеновая кислота и др. [185].

Одной из наиболее исследованных групп природных антиоксидантов являются флавоноиды. Они считаются классическими антиоксидантами. Их антиоксидантная активность объясняется следующими особенностями. Они связываются с ионами тяжелых металлов с образованием комплексов. Полученные комплексные соединения являются катализаторами окислительных процессов. Также флавоноиды при взаимодействии с высокоактивными свободными радикалами пере-

водят их в малоактивные [13, 33, 68, 100, 274, 353]. Флавоноиды способны, встраиваясь в гидрофобный слой мембран, снижать текучесть липидов и тем самым затруднять диффузию свободных радикалов, т.е. выступать в роли структурных антиоксидантов [218, 223]. Являясь ингибиторами свободнорадикального окисления, различные фенольные соединения, в том числе и флавоноиды, вступают во взаимодействие с внутриклеточными антиоксидантами и могут восстанавливать активность более сильных антиоксидантов. При этом различные механизмы антиоксидантного действия могут сочетаться. Некоторые авторы отмечают, что в результате совокупного влияния различных групп биологически активных веществ, присутствующих в растительных экстрактах и комплексных препаратах, проявляется более выраженный антиоксидантный и фармакологический эффекты [9, 146, 208].

Другой причиной высокой антиоксидантной активности флавоноидов, может быть их ингибирующая активность ряда ферментов, включая гидролазы, например фосфолипазы, оксидоредуктазы. Многие флавоноиды также способны ингибировать цАМФ и цГМФ фосфодиэстеразы, в результате чего увеличивается уровень цАМФ, участвующего в различных каскадах. Многочисленные экспериментальные исследования в водных системах позволили выявить следующие наиболее важные для антирадикальной активности структурные элементы молекул флавоноидов:

- 1) две ОН-группы в положениях С3' и С4';
- 2) двойная связь между С2 и С3 атомами углерода, желательно совместно с карбонильной группой в положении С4;
- 3) ОН-группы в положениях С3 и С5 совместно с карбонильной группой [284].

В многочисленных экспериментальных исследованиях установлены механизмы антиоксидантной активности различных флавоноидов. Так, лютеолин способен снижать концентрацию продуктов ПОЛ [330]. Мирицетин ингибирует повреждение ДНК и замедляет образование гидроксила, инициированное пероксинитритом [290]. Морин защищает клетки снижением концентрации продуктов

ПОЛ, а также снижает уровень апоптоза клеток при воспалительных процессах [381]. Физетин проявляет антиоксидантные свойства за счет увеличения концентрации внутриклеточных антиоксидантов, например, глутатиона, а также снижает содержание продуктов ПОЛ и защищает митохондрии от окислительного стресса [291, 333]. Изорамнетин подавляет митохондриальные пути апоптоза за счет снижения концентрации АФК, защищая тем самым кардиомиоциты [368]. Под влиянием гесперидина происходит снижение скорости ПОЛ, а также повышается уровень АТФ и ферментов цикла трикарбоновых кислот и активность внутриклеточных антиоксидантных ферментов [343]. Диосмин также происходит снижение скорости ПОЛ, а также повышается активность внутриклеточных антиоксидантных ферментов [361]. Дигидрокверцетин способен активировать ферментативную систему антиоксидантной защиты и ингибировать образование свободных радикалов, образующихся при ПОЛ. Происходит снижение скорости ПОЛ, а также повышается уровень АТФ и ферментов цикла трикарбоновых кислот и активность внутриклеточных антиоксидантных ферментов [373].

Наряду с антиоксидантными свойствами, флавоноиды способны проявлять прооксидантный эффект. Флавоноиды способны окисляться - восстанавливаться, как получая электрон от органических продуктов, так и металлов переменной валентности. Эти свойства флавоноидов во многом зависят от их растворимости, соотношения окислителей и восстановителей в среде, наличия металлов переменной валентности, pH среды и др. [398]. Так, например, в присутствии органических перекисей флавоноиды подавляют индуцированное Cu^{2+} окисление липопротеинов, а в отсутствие перекиси водорода они проявляют себя преимущественно как прооксиданты и усиливают окисление; при этом прооксидантная активность флавоноидов так же, как в случае ингибирования ОН-радикалов и перекисных радикалов, прямо зависит от наличия ОН-заместителей и двойной связи C2-C3 между кольцами А и В [288]. Во многих исследованиях *in vitro* у флавоноидов выявляется как антиоксидантный, так и прооксидантный эффект, особенно в присутствии ионов металлов переменной валентности. Так, морин и нарингенин индуцировали окисление липидов в изолированных ядрах из печени крыс, а также вы-

зывали образование сшивок в ДНК [355]. Прооксидантный эффект флавоноидов также наблюдается при воздействии их на опухолевые клетки. Они инициируют апоптоз в раковых клетках, и в них повышается содержание продуктов перекисного окисления белков и липидов, а активность внутриклеточных антиоксидантных ферментов снижается [216].

Флавоноиды ингибируют процессы ПОЛ как на стадии инициации, взаимодействуя с радикалами $O\cdot$ и $OH\cdot$, так и на стадии продолжения цепи, выступая донорами атомов водорода для перекисных радикалов [360].

Как показали многочисленные клинико-экспериментальные исследования, коррекция прооксидантных нарушений в проантиоксидантной системе при атеросклерозе, различных формах ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии значительно улучшает клиническое течение нестабильной стенокардии, инфаркта миокарда, артериальной гипертензии, уменьшает прогрессирование атеросклероза. Флавоноиды за счет своих антиоксидантных свойств способны оказывать разнообразное защитное действие на ССС. Так, уменьшение атеросклеротических бляшек и улучшение вазорелаксации связано со способностью снижать уровень провоспалительных цитокинов. Защитное действие на кардиомиоциты осуществляется через подавление митохондриальных путей апоптоза, снижение концентрации перекиси водорода и благодаря экспрессии генов антиоксидантных ферментов клетки. Влияние на сердце проявляется также в стимулировании продукции окиси азота эндотелиальными клетками. За счет антиоксидантного действия, связанного с подавлением инфильтрации лейкоцитов, продуцирующих АФК, происходит облегчение течения ишемии мозга [216].

Недостаточная популярность антиоксидантных средств и отсутствие традиций их широкого применения в практической медицине обусловлены рядом причин: недостаточной изученностью этого вопроса, сложностью адекватной оценки состояния параметров перекисного окисления в организме, отсутствием эффективных медикаментозных средств, обладающих антиоксидантной активностью и способных быстро уменьшить последствия оксидантного стресса [46].

Результаты многих отечественных научных работ доказывают целесообразность использования антиоксидантных препаратов, в частности наиболее изученного из них в настоящее время - мексикора, в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний [1, 24, 44, 45, 86, 105, 141, 152, 161, 198, 278].

Однако в последнее время необходимость использования экзогенных антиоксидантов природного и синтетического происхождения в качестве ангио- и кардиопротекторов при терапии различных форм ИБС и ее осложнений была поставлена под сомнение [58, 323]. Это связано с тем, что в ранее проведенных многочисленных клинических исследованиях у больных ИБС, в том числе двойных слепых и плацебоконтролируемых, с использованием ангиографического контроля, был продемонстрирован положительный эффект α -токоферола и других природных витаминов-антиоксидантов на течение и исход ССЗ [312, 339, 365]. Но в недавно завершившемся многолетнем исследовании "Защита сердца" (HPS) не было установлено влияния витаминов-антиоксидантов на уменьшение смертности от ССЗ [310]. Среди причин можно рассматривать несколько. Во-первых, в основном эффект антиоксидантов при атеросклерозе преимущественно профилактический. А так как процесс образования атеросклеротической бляшки начинается в молодости, при ее формировании и манифестации ишемической болезни вряд ли можно добиться значительных успехов, используя средства, влияющие, преимущественно, на ранние патологические этапы. Во-вторых, как уже доказано, существует целая антиоксидантная система со своим легко нарушаемым балансом. Использование же какого-либо одного или нескольких экзогенных антиоксидантов может нарушить равновесие, причем, скорее, в худшую сторону. В качестве третьей причины не исключаются генетические дефекты, приводящие к ферментопатиям в антиоксидантной системе организма. В этом случае имеющиеся нарушения просто не могут быть устранены теми препаратами, которые используются, вследствие специфичности этих нарушений [160, 186].

Всесторонний критический анализ причин неоднозначности полученных результатов по применению витаминов-антиоксидантов у больных с ССЗ показал необходимость проведения дальнейших исследований для разработки эффектив-

ных патогенетических принципов и показаний к применению антиоксидантной терапии при ССЗ и поиска новых, более эффективных антиоксидантных препаратов [44].

Известным геронтологом Фролькисом В.В. была высказана мысль, что в исследованиях с антиоксидантами, очевидно, чрезвычайно важен правильный выбор периода онтогенеза, когда собственные антиоксидантные системы клетки не справляются со свободными радикалами и организм действительно нуждается в экзогенной антиоксидантной защите. Есть основания полагать, что одним из возможных таких периодов является старость [229]. Проводились исследования, в которых было показано, что смертность от инфаркта миокарда среди пожилых людей характеризуется обратной корреляцией с потреблением флавоноидов [216]. Свободные радикалы, накапливаясь по многим причинам: загрязнённая окружающая среда, электромагнитные и радиационные излучения, солнечная радиация, неполноценное питание, стрессы, курение являются причинами различных заболеваний и изнашивания организма. К примеру, мощное ультрафиолетовое излучение способно «выбивать» электроны из молекул клеток кожи, и, как результат, «нормальные» молекулы превращаются в свободные радикалы. Коллаген кожи при столкновении с ними, становится настолько химически активным, что способен связываться с другой молекулой коллагена и т.д. Образовавшиеся при этом молекулы коллагена, имея при этом ту же самую структуру, становятся менее эластичными, что вызывает старение кожи [121].

Следовательно, исследования по использованию природных антиоксидантов, является достаточно перспективным направлением в терапии ССЗ и их применение, позволило бы уменьшить количество больных с острыми и хроническими нарушениями сердечно-сосудистой системы.

Таким образом, имеющийся на сегодняшний день клинический опыт и результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о важной роли оксидантного стресса в формировании и прогрессировании сердечно-сосудистой патологии и необходимости его ранней, планомерной и комплексной антиоксидантной коррекции [43, 46].

1.2. Современная ситуация распространенности заболеваний сердечно-сосудистой системы

Основными причинами смертности населения в мире по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) на протяжении последних десятилетий являются такие заболевания, как ишемическая болезнь сердца, инсульты, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), респираторные инфекции нижних дыхательных путей (Респ. и. НДП), рак легких, трахеи и бронхов, диабет, диарея, вирус иммунодефицита (ВИЧ), дорожно-транспортные происшествия (ДТП) и гипертоническая болезнь (рисунок 1.2.1.) [264].

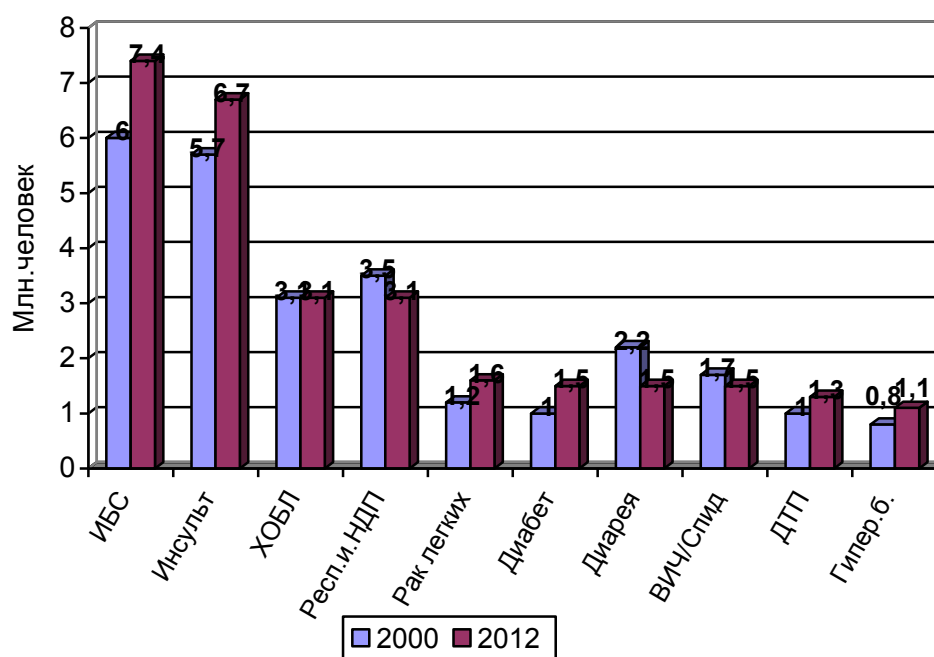


Рисунок 1.2.1. Десять ведущих причин смерти в мире

Заболевания сердечно-сосудистой системы по числу смертности населения занимают первое место и одно из ведущих мест по распространенности. Подобная ситуация отмечается во всех цивилизованных странах мира. В 2012 году в мире от сердечно-сосудистых заболеваний умерло около 17,5 млн. человек, что составляет 31 % всех случаев смерти. Среди причин сердечно-сосудистой смертности на первом месте стоит ишемическая болезнь сердца (397 случаев на 100 000 чел.

или 53%), на втором - цереброваскулярная болезнь (233 случаев на 100 000 чел. или 31%) [167, 264].

В России ССЗ составляют 57 % среди общей смертности. Анализируя динамику и структуру смертности в РФ, оказалось, что с 1965 г смертность от ССЗ возросла от 47,6 % до 57 % в 2013 г (рисунок 1.2.2.) [266]. Население нашей страны, в основном, умирает в трудоспособном возрасте. Особенно это касается мужского населения. Уровень же мужской смертности в работоспособном возрасте в пять раз превышает уровень смертности женщин аналогичного возраста (304 и 65 случаев на 100 000 мужчин (женщин) трудоспособного возраста) [167, 264, 266]. Так, основная доля смертности мужчин в трудоспособном возрасте приходится на инфаркт миокарда (ИМ) (в 9,1 раз мужчин умирает больше, чем женщин), ИБС (в 7,2 раза) и церебро-васкулярная болезнь (ЦВБ) (в 3,4 раза) (рисунок 1.2.2.) [67].

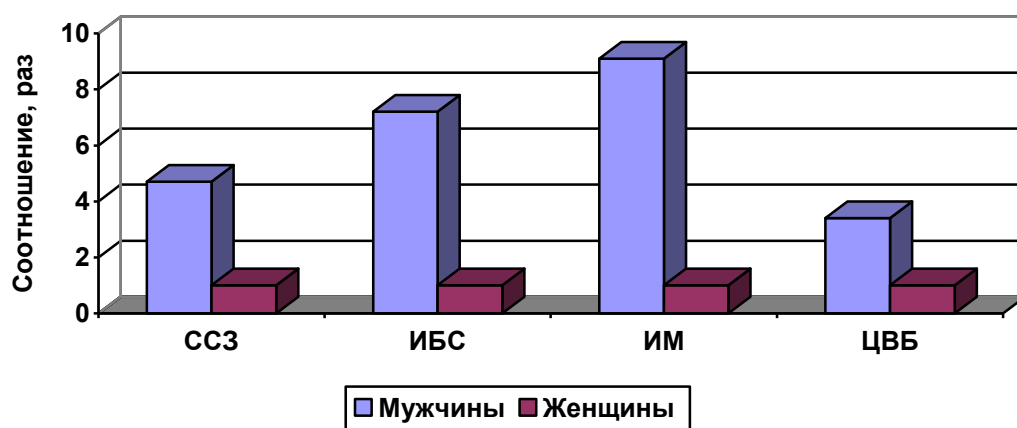


Рисунок 1.2.2. Соотношение смертности в РФ мужчин и женщин в трудоспособном возрасте

Показатели ожидаемой продолжительности жизни в России ниже, чем в странах Европейского союза на 8-11 лет. ССЗ - наиболее частая причина госпитализаций и потерь трудоспособности населения РФ [167]. Сердечно-сосудистые заболевания приводят к огромному социально-экономическому ущербу общества за счет смертности, потери трудоспособности, расходов на лечение и реабилитацию больных. Отсутствие на работе вследствие болезни влечет за собой прямые затраты на лечение, выплату пособий по временной нетрудоспособности и косвенные издержки из-за снижения производства товаров и услуг. В нашей

стране, согласно отчету Всемирного Банка «Умирая слишком молодыми», на каждого работающего жителя в течение года приходится 10 дней отсутствия на работе по причине болезни (по сравнению со средним показателем по Евросоюзу в 7,9 дней в год), что дает потери в сумме от 0,55 до 1,37 процентов ВВП в год [271]. Экономический ущерб от ССЗ в РФ составляет около 1 триллиона рублей ежегодно [109, 167].

Коэффициент смертности от ССЗ в России в 3-4 раза выше, чем в развитых европейских странах. Показатель уровня смертности в России за 2012 год составил 13,2 на 1000 населения; умерло 53624 чел., что на 780 чел. (на 1,4%) меньше, чем в 2011г. Население нашей страны умирает, в основном, в трудоспособном возрасте. Если сравнивать коэффициенты смертности населения в трудоспособном возрасте в различных субъектах РФ, то он в 2012-2013 гг. в целом по России составил 575,7 и 560,9 на 100 000 населения, в Приволжском федеральном округе (ПФО) - 617,5 и 617,1, в Республике Башкортостан (РБ) - 640,6 и 647,5, в Республике Татарстан (РТ)- 505,8 и 499,4, в Чеченской Республике (Чеч.Р)- 232,3 и 219,7, в Республике Мордовии (РМ)- 578,7 и 586,2, в Чувашской Республике (Чув.Р)- 601,9 и 595,3, в Удмуртской Республике (УР) - 611,6 и 622,9, в Челябинской области (Чел.обл.)- 640,1 и 623,4, Республика Марий Эл - 664, 1 и 662,2, в Оренбургской области (Ор.обл.)- 666,7 и 670, 5, в Пермском крае (Перм.кр.) - 686,9 и 678,1 соответственно (рисунок 1.2.3.) [158].

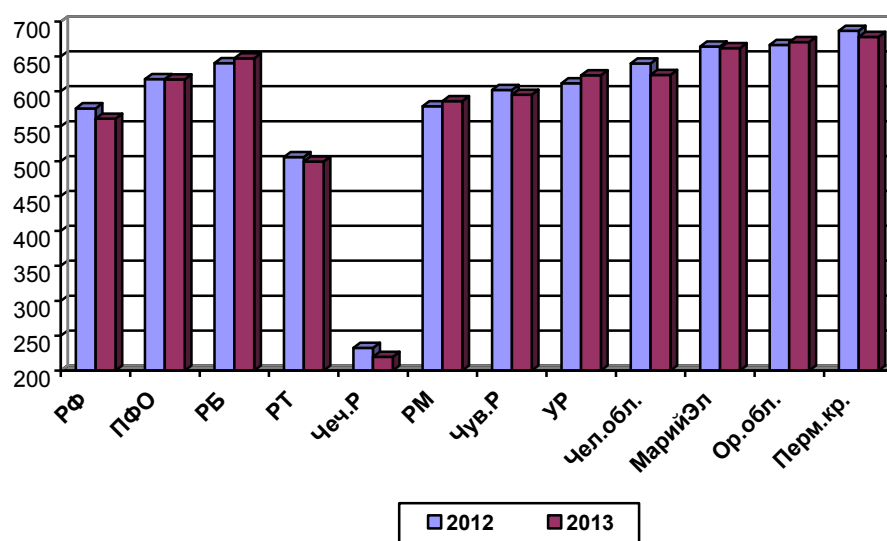


Рисунок 1.2.3. Смертность населения РФ в трудоспособном возрасте 2012-2013 гг.

Если, в общем, по РФ наблюдается отрицательная динамика (-2,6) смертности, то в РБ наблюдается ее увеличение (+1,1). Среди 87 субъектов РФ Республика Башкортостан по продолжительности жизни располагается только на 54 месте. К примеру, Республика Татарстан находится на 16 месте, имея отрицательную динамику (-1,3) [158].

По данным федерального информационного фонда социально-гигиенического мониторинга Республика Башкортостан в 2009-2012 годы отнесена к территориям риска по уровню заболеваемости болезнями, характеризующимися повышенным кровяным давлением, среди подростков и взрослого населения [263].

По данным ВОЗ более трех четвертей всех смертей от ССЗ можно предотвратить за счет изменения образа жизни и коррекции поведенческих факторов риска [167]. В связи с вышесказанным, профилактика ССЗ признана в настоящее время в России важной государственной задачей [90].

Все это определяет исключительную важность организационных мероприятий по профилактике, раннему выявлению и эффективному лечению больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Проведение таких мероприятий должно быть основано на достоверной информации о распространенности сердечно-сосудистых заболеваний среди населения, факторов риска их развития, оценке потребности населения в различных видах лечебно-диагностической помощи. Выявление основных взаимосвязей между сердечно-сосудистыми заболеваниями и социально-экономическими факторами является важным элементом борьбы с заболеваниями данной группы.

В проспективных эпидемиологических исследованиях определены факторы, которые способствуют развитию и прогрессированию ССЗ (рисунок 1.2.4.). Это курение, нездоровое питание (недостаточное потребление овощей/фруктов, избыточное потребление насыщенных жиров и поваренной соли), низкая физическая активность и избыточное потребление алкоголя. Длительное негативное действие поведенческих факторов приводит к развитию так называемых биологических факторов риска ССЗ. В их числе артериальная гипертензия (АГ), дислипидемия,

избыточная масса тела, ожирение и сахарный диабет. В развитие и прогрессирование ССЗ значительный вклад вносят также психосоциальные факторы риска (низкая социальная поддержка, низкий уровень образования и дохода, психосоциальный стресс, тревожные и депрессивные состояния) [90, 264].

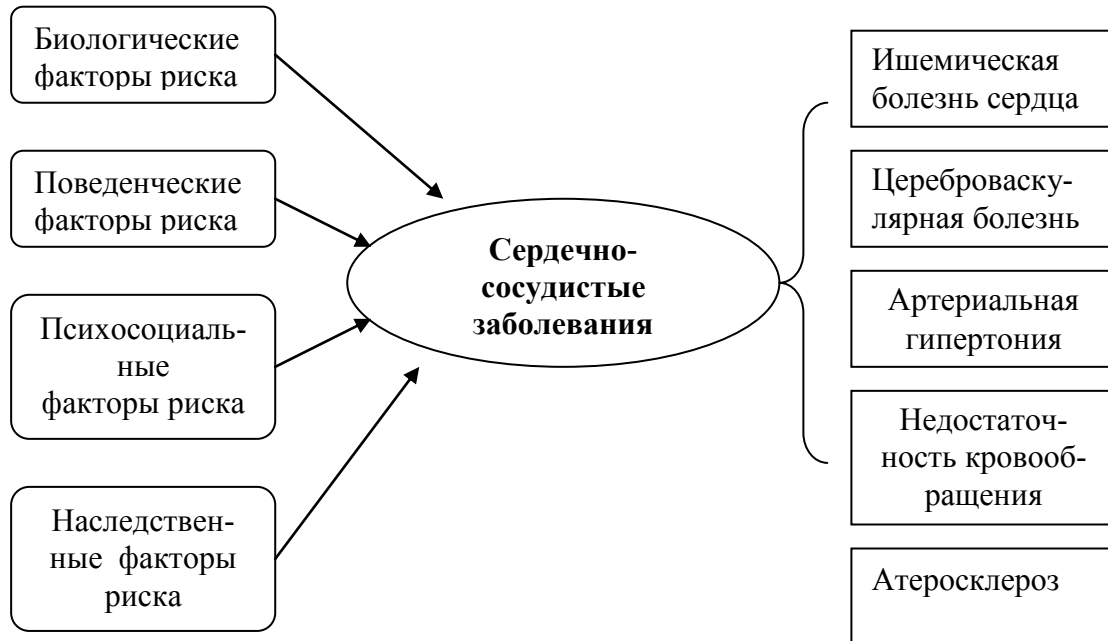


Рисунок 1.2.4. Факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний

Одной из основных причин высокой смертности от ССЗ является высокое потребление алкоголя и табака на душу населения. Но для Франции и Италии, у которых также характерен высокий уровень потребления алкоголя, показатели смертности населения от ССЗ значительно ниже. Это также может быть связано со структурой потребления отдельных видов алкогольных напитков в России, где крепкие спиртные напитки занимают лидирующее положение в общем потреблении алкоголя на душу населения. По оценкам некоторых экспертов, в нашей стране потребление алкоголя является причиной 12 % общей смертности населения и сокращает на 16,5 лет среднюю продолжительность жизни [275]. В связи с этим, в 1990-е годы в нашей стране была изменена структура потребления алкогольной продукции, с переходом населения на потребление слабоалкогольных видов - вина и пива, менее вредных для здоровья. Прием этих видов спиртных напитков вырос, но потребление водки не снизилось [28].

По мнению ряда исследований, географическое положение России является достаточно важной причиной высокого уровня смертности населения от ССЗ. Длительная и холодная зима, короткий световой день приводит к стрессам, недостатку свежих овощей и фруктов, высокому потреблению животных жиров и как следствие, избыточному весу. Также данные климатические условия стимулируют потребление крепких алкогольных напитков. Однако для стран, сходных в географическом положении (Финляндия, Швеция), характерна значительно более низкая доля ССЗ в общей структуре смертности населения [362].

Для Республики Башкортостан одной из основных причин высокой смертности от ССЗ является наличие на ее территории большого количества химических и нефтеперерабатывающих предприятий, которые пагубно действуют на экологическую обстановку в регионе. Проведенные исследования по сравнительной оценке популяционных закономерностей заболеваемости и преждевременной смертности населения от болезней ССС свидетельствуют, что на территории техногенного загрязнения среды обитания ароматическими углеводородами создаются прогностически неблагоприятные тенденции роста преждевременной смертности и заболеваемости населения ССЗ [81].

Изменение образа жизни и снижение уровней факторов риска может предупредить или замедлить развитие и прогрессирование многих неинфекционных заболеваний, как до, так и после появления клинических симптомов. Для этого имеются научно-обоснованные эффективные немедикаментозные и медикаментозные методы профилактики и снижения уровней факторов риска, а также снижения развития и прогрессирования неинфекционных заболеваний. Профилактическая среда предполагает создание нормативно-правовых, инфраструктурных, информационно-образовательных, и других условий, позволяющих вести здоровый образ жизни, а также мотивирование людей к долголетию и качественной жизни. Т.е. в медицине наблюдается тенденция к переходу от системы лечения больных к системе, основанной на формировании культуры здоровья и направленной на первичную и вторичную профилактику заболеваний [77, 226].

Поэтому основополагающим в профилактике ССЗ является выявление лиц с

высоким риском ССЗ и лиц, уже имеющих в анамнезе патологию системы кровообращения, и проведение у них активных профилактических мероприятий, в том числе медикаментозных для предотвращения новых случаев ССЗ [203, 204, 264]. Качественная и своевременная медицинская помощь является залогом уменьшения смертности и инвалидизации населения нашей страны [8, 35, 99, 167].

1.3. Использование лекарственных растительных средств для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний на современном этапе

Медикаментозные методы терапии не всегда позволяют восстановить нарушенные функции, несмотря на большой ассортимент синтетических препаратов, действие которых направлено лишь на некоторые звенья патогенеза. Этим, в определенной степени, можно объяснить вероятность повторного нарушения коронарного или мозгового кровообращения с многообразием патогенетических расстройств. Кроме того, лекарственные препараты для лечения ССЗ имеют достаточно большое количество побочных эффектов и противопоказаний [61, 63, 76, 104, 162, 213, 215, 224, 270, 294, 336]. Терапия ССЗ требует длительного лечения с применением большого количества лекарственных препаратов, в большинстве своем сильнодействующих и имеющих ряд побочных эффектов и противопоказаний, что может осложнить течение основного заболевания. Число и тяжесть лекарственных осложнений с каждым годом возрастает. От осложнений лекарственной терапии, по данным экспертов ВОЗ, ежегодно погибает около одного миллиона жителей земного шара [102, 128]. Лекарственная терапия ишемической болезни сердца и особенно инсульта являются одними из высокочатотных [177]. Такая ситуация наблюдается и за рубежом [299, 301, 303, 304, 307, 317, 357], и у

нас в стране [14, 21, 177, 210]. Поэтому проблема эффективности лечения нарушений ССС остается актуальной.

Одним из путей решения этой острой проблемы может служить комплексная терапия с использованием комбинации различных синтетических препаратов и растительных средств, которая дает хороший лечебный эффект, и одновременно снижает побочное действие синтетических препаратов, особенно при длительном курсовом применении [251]. Применение препаратов растительного происхождения для лечения сердечно-сосудистых заболеваний оправдано благодаря их высокой степени безопасности при достаточной эффективности, возможности длительного применения при хронических заболеваниях, многоплановости и многогранности действия, доступности и относительно невысокой стоимости. Безусловно, фитопрепараты не всегда могут заменить синтетические препараты, но они практически всегда могут использоваться в комплексной терапии [128].

В фитотерапии сердечно-сосудистых заболеваний применяются фитопрепараты, содержащие различные группы биологически активных веществ и обладающее антиангинальным, седативным, спазмолитическим, антиаритмическим, гипотензивным, капилляроукрепляющим, антиагрегантным, антигипоксическим и антиатеросклеротическим действием [71, 123].

Антиангинальными и антигипоксическими свойствами обладают такие виды лекарственного растительного сырья, как плоды и цветки боярышника, трава донника, мелиссы лекарственной [128]. В Государственный реестр лекарственных средств входят только два комбинированных антиангинальных средства растительного происхождения: Карниланд (настойка корневищ с корнями валерианы, настойка травы ландыша, нитроглицерин, левоментол) и Коронатера (экстракт корневища лигустикума чуансионского, борнеол) [265].

Препараты боярышника, за счет содержащихся в них в качестве действующих соединений – флавоноидов и тритерпеновых кислот, усиливают сократимость миокарда, улучшают коронарный кровоток и утилизацию кислорода, понижают артериальное давление, обладают противоаритмической активностью и седативным действием. ЛРС боярышника входит в состав различных сборов, ис-

пользуемых при ССЗ, например: Крегиум (экстракт листьев и цветков), Биовиталь (сухой экстракт листьев, плодов), доктор ТайссГеровитал (экстракт), Доппельгерцэнерготоник (настойка), КардиоГерб (плоды), Кардиплант (сухой экстракт листьев и цветков), Ново-пассит (экстракт), гомеопатический препарат Пумпан, сбор «Касмин» (плоды) для профилактики атеросклероза, Ультравит (масляный экстракт), Ангионорм (экстракт) [265,270].

Трава донника обладает антикоагулянтным, антиагрегантным, антигипоксическим, антиангинальным, гипотензивным, противовоспалительным, противомикробным, седативным, слабительным, ранозаживляющим, ветрогонным действием. Кумарины, содержащиеся в траве донника, угнетают ЦНС, обладают противосудорожным и наркотическим действием [98]. Трава донника входит в состав сбора «Успокоительный №3», комбинированного препарата «Седофлор», которые применяют в качестве седативных средств при повышенной возбудимости, вегето-сосудистой дистонии, гипертонической болезни [265]. У экстракта донника установлены антигипоксические, нейропротекторные и антиоксидантные свойства на модели экспериментальной ишемии головного мозга у крыс [130].

Трава мелиссы лекарственной проявляет выраженный противогипоксический эффект, лежащий в основе кардио-, нейро-, нефро- и иммунопротективных свойств [273, 306, 319, 320, 358]. Фармакологические свойства обусловлены содержащимися в ней фенилпропаноидами, эфирными маслами и флавоноидами [116]. Трава мелиссы лекарственной входит в состав препаратов: Доппельгерц мелисса (спиртовое извлечение листьев), Доппельгерцэнерготоник (масло), КардиоГерб (трава), Ново-пассит (экстракт), Персен (экстракт), Фито Ново-сед (экстракт), сбор «Касмин» (трава) [265].

Цветки лабазника обыкновенного обладают кардиопротективным действием. Водный и водно-этанольный экстракты, полученные из наземной части в эксперименте проявляли антигипоксическую, анксиолитическую, ноотропную и адаптогенную активность [205, 214, 259].

Повышают устойчивость миокарда к ишемическим и реперфузионным повреждениям, обладая мембраностабилизирующим действием, корневища с кор-

нями родиолы розовой. Препараты элеутерококка колючего способствуют адаптации больных ИБС и нейроциркуляторной дистонией. Суммарные флавоны из листьев гинкго билоба значительно уменьшают размеры зоны инфаркта и активность креатинфосфокиназы в сыворотке крови за счет ангиопротекторного действия. Они эффективно подавляют процессы пероксидного окисления липидов, продукты которого - липопероксиды ингибируют простациклинсинтазу, благодаря деятельности которой образуется простациклин-вазодилирующий антиагрегационный агент. Нарушение его образования приводит к увеличению количества тромбоксана A_2 - мощного проагрегационного вазоконстриктора. Антиоксидантный эффект препаратов гинкго двулопастного лежит и в основе его протективного действия на культивируемые кардиомиоциты крыс после их повреждения перекисью водорода и нейропротекторного действия, которое связано с сохранением баланса угнетающих/возбуждающих аминокислот, а также в ингибировании глутамата на ионы Ca^{2+} . Флавоноиды - гинкголиды ингибируют фактор активации тромбоцитов, что препятствует их агрегации и выделению вазоконстрикторных медиаторов. Препарат гинкго двулопастного - «Билобил» благоприятно воздействует на мозговое кровообращение и снабжение мозга глюкозой, оказывает антигипоксическое действие в условиях гипоксии, обладает мощным антиоксидантным потенциалом [272, 277, 293, 313, 345].

К растительным ангиопротекторам относятся такие растительные препараты, как Эсцин (из семян каштана конского), Билобил (из листьев гинкго двулопастного), Диосмин (из кожуры лимона), Детралекс (гесперидин+диосмин), Рутин (из бутонов софоры японской), Венорутон (производное рутина), Асковертин (аскорбиновая кислота+дигидрокверцетин, получаемый из лиственницы), Ангионорм (экстракт сухой, получаемый из плодов боярышника, корней солодки, семян каштана конского и плодов шиповника), Антистакс (экстракт сухой из красных листьев винограда), настойка мяты перечной [265].

Так как основным фактором риска развития ССЗ является атеросклероз [90, 167], то достаточно эффективным является прием растительных препаратов, обладающих антиатеросклеротическим действием. Данными свойствами обладают

такие растительные препараты, как Полиспонин - из корневищ с корнями диоскореи ниппонской и диоскореи кавказской, Гербион аллиум - из луковиц чеснока посевного, Трибестан - из травы якорцев стелющихся [265]. Антиатеросклеротические свойства листьев подорожника большого (*Plantago major* L.) отмечали еще Ангарская М.А. и соавт. (1962). Снижение уровня холестерина в крови под его влиянием обусловлено действием сапонинов, оксикоричных кислот, флавоноидов и пектиновых веществ. Антигипоксический эффект листьев подорожника большого связан с содержанием в нем органических и фенолкарбоновых кислот (ФКК) [2]. Антиатеросклеротическим действием за счет желчегонного эффекта обладают цветки арники, цветки бессмертника, плоды и цветки боярышника, кукурузные столбики с рыльцами, слоевища ламинарии, семена льна, листья мяты перечной, плоды шиповника и другие [89, 101, 152].

Механизм антигипоксического и стресс-протективного действия корневищ с корнями девясила высокого связывают с его антиоксидантным действием и способностью регулировать энергетический обмен. Антиоксидантная активность реализуется благодаря наличию в его составе флавоноидов, сапонинов, селена и витамина Е [142].

Фармакологическая активность травы барвинка малого сочетает в себе сосудистое и метаболическое действие, влияет на агрегацию тромбоцитов, способствует нормализации венозного оттока на фоне снижения сопротивления мозговых сосудов и увеличивает мозговой кровоток преимущественно в ишемизированных областях. Препараты травы барвинка малого (винкамин, винпоцетин) применяют в остром периоде инсульта. В результате лечения ускоряется регресс общемозговой и очаговой симптоматики, улучшается память, внимание, интеллектуальная продуктивность, утилизация кислорода тканями. Использование данных препаратов позволяет снизить дозы антигипертензивных средств [10, 22, 29, 101, 207, 265].

Траву пустырника применяют, в основном, как успокаивающее и гипотензивное средство. В народной медицине некоторых стран ее использовали в качестве кардиотонического средства, так как трава пустырника усиливает силу и за-

медляет ритм сердечных сокращений, обладает коронаролитической активностью. Трава пустырника входит в состав препаратов: Биовиталь, доктор ТайссГеровитал, сбор успокоительный №3. В больших дозах понижает артериальное давление [123].

В настоящее время отечественными исследователями изучаются биологические свойства новых видов растительного сырья и препаратов на их основе для использования в кардиологии.

Разработан лекарственный растительный препарат Чистяковым А.Г. с соавт. для использования при сердечно-сосудистых заболеваний. Он представляет собой настойку на 40% этиловом спирте, полученную с использованием цветков боярышника, бузины черной, листьев мяты перечной, крапивы, омелы белой свежие, травы горицвета весеннего, донника, ландыша, пустырника, чабреца, плодов аморфы кустарниковой, корневищ с корнями валерианы, корней солодки, семян конского каштана. В эксперименте установлено, что данное средство обладает выраженным седативным, кардиотоническим, антиаритмическим, мягким гипотензивным действием и рекомендован авторами при ИБС и ГБ [257].

Ивашевым М.Н. и др. в Пятигорской фармацевтической академии изучалось влияние антиоксиданта «Сосудистый доктор» (производитель - фирма «Фитогаленика», г. Москва), содержащего масляный экстракт шести растений (флавоноидные фракции бессмертника, валерианы, девясила, душицы, зверобоя, чабреца), на основные показатели сердечно-сосудистой системы при экспериментальном инфаркте миокарда у бодрствующих крыс. Установлено, что исследуемый препарат оказывал существенный протективный эффект, который не уступал препарату сравнения - пирацетаму [82].

В результате совместной работы сотрудников кафедры фармакогнозии ММА им. И.М. Сеченова и ЗАО «Ст.-Медифарм» разработан лекарственный сбор «Гнафалин» (плоды боярышника, траву сушеницы, траву пустырника, корневища с корнями валерианы, листья мяты перечной, траву горца птичьего, листья подорожника большого). В ходе доклинических исследований наблюдалось стойкое снижение артериального давления, седативный эффект, благоприятное воздей-

ствие на течение ишемической болезни сердца. У отвара сбора установлено спазмолитическое, сосудорасширяющее, диуретическое и седативное действие. Сбор зарегистрирован и внедрен в производство как лекарственное средство для профилактики и лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы [84].

Томскими учеными разработана пропись лекарственного растительного сбора «Кардизид», обладающего комплексным действием на организм при ССЗ и улучшающего реологические свойства крови. Сбор состоит из травы манжетки, корневищ с корнями левзеи, плодов боярышника, рябины черноплодной, зизифоры клиноподиевидной. У сбора выявлены гипотензивное действие, а также способность устранять патологическую гиперагрегацию эритроцитов, снижать вязкости крови [135].

В Томском НИИ фармакологии исследовали антиагрегантные и гемореологические эффекты комплекса «ацетилсалициловая кислота-диквертин» на моделях сердечно-сосудистой патологии у крыс. Установлено, что диквертин обладает антиоксидантными, гастропротективными свойствами, гемореологической активностью, повышает деформируемость эритроцитов, ослабляет агрегацию тромбоцитов. Комплекс ацетилсалициловой кислоты с диквертином при курсовом введении превосходит ацетилсалициловую кислоту по выраженности антиагрегантного эффекта и улучшает деформируемость эритроцитов [158].

Анализируя химический состав растительных препаратов, используемых при ССЗ, выяснилось, что, в основном, действующими группами БАВ в них являются флавоноиды. Современными исследователями изучаются фармакологические свойства различных выделенных флавоноидов и их комплексов. Так, у выделенных из лекарственного растительного сырья флавоноидов - кемпферол-3-гликозида, васкулярина, кверцетина, изорамнетина установлен кардиоваскулярный эффект [334]. При проведении эксперимента на животных установлено гипотензивное действие байкалеина, суммы флавоноловых глюкуронидов и настойки шлемника байкальского [149]. При проведении сравнительной оценки гиполипидемической и атероматозной активности флавоноидов оказалось, что наиболее выражено проявляют ее гинестеин, потом кверцетин, лютеолин и кемпферол

[103]. Снижают холестерин в крови халконы, флавоны, катехины, флаваноны, флавонолы и изофлавоны эффективнее, чем растительный препарат из диоскореи – полиспонин [32]. Исследовалось влияние флавоноидов горца птичьего на агрегацию тромбоцитов, вызываемую различными индукторами (АДФ, коллаген, арахидоновая кислота). Установлено, что витексин и рамнетин-3-галактозид обладают антиагрегантными свойствами при всех видах агрегации, кемпферол-3-арабинозид и лютеолин подавляют или усиливают агрегацию в зависимости от условий. Рутин же полностью подавляет агрегацию эритроцитов, вызванную фибриногеном [103]. В эксперименте на изолированном сердце крысы показано, что теафлавины оказывают кардиопротективное действие. У гесперидина выявлены гипотензивные свойства [216].

Влияние флавоноидов на состав крови исследовано на примере флавоноидов копеечника темного. Авторами обнаружено влияние 3-метоксилированных флавонолов на агрегацию тромбоцитов и снижение уровня холестерина. Антиатеросклеротическое действие флавоноидов связывают также с их желчегонным действием. Установлено, что рутин, кверцетин, катехин и мальвидин-3-глюкозид влияют на биоэлектрическую активность и морфологические особенности сердца. У халкона выявлены свойства увеличивать текучесть липидов мембран ткани сосудов, изменяя при этом резистентность сосудов. На основе кверцетина синтезированы О-алкилпроизводные, которые являются ингибиторами циклических нуклеотидов мозга и сердца со специфической избирательностью [103]. Антиагрегантные, ангиопротекторные и гипохолестеринемические свойства установлены у антоцианидинов. Также препараты, содержащие дигидрокверцетин, способны влиять на реологические свойства крови, являясь ингибиторами агрегации тромбоцитов [216].

Одним из современных направлений фармации является создание комплексных препаратов на основе флавоноидов с лекарственными средствами и получение на основе флавоноидов полусинтетических производных [103, 295]. В состав капель лекарственного препарата «Анавенол», применяющийся в качестве вентонизирующего средства, входит натрийсульфонатная соль рутина. На осно-

ве оксиэтилированных рутозидов предложен препарат «Венорутон», обладающий гиполипидемической и венотонизирующей активностью. Рутин, экстракты чеснока и боярышника входят в состав препарата «Аллкаратин», обладающего антиатеросклеротическим и гипотензивным действием [103].

Наиболее изучены антиоксидантные свойства флавоноидов, которыми и объясняется широкий спектр их биологического действия. Доказано, что флавоноиды являются «ловушками» свободных радикалов и предотвращает ПОЛ (железоиндуцированного аскорбатзависимого окисления липидов). Исследованы взаимосвязи антиоксидантных свойств и структуры флавоноидных структур. Экспериментальные данные свидетельствуют о прямой взаимосвязи между антиоксидантной зависимостью и количеством фенольных - ОН групп в их молекулах. На основании многочисленных исследований на различных экспериментальных моделях установлено антиоксидантное действие более 50 выделенных флавоноидов из ЛРС [103, 178, 216].

Таким образом, изучением строения различных флавоноидов и их фармакологических свойств занимаются исследователи всего мира. На основании данных исследований предложено более 100 комплексных флавоноидных препаратов при различных заболеваниях, в том числе и при ССЗ [103, 216].

1.4. Растения рода *Crataegus* L. - потенциальный и перспективный

источник биологически активных веществ

Расширение ассортимента лекарственных средств на основе отечественной растительной сырьевой базы является одной из актуальных задач современной фармации. Возможным решением данной задачи является внедрение в практику новых видов лекарственного растительного сырья уже изученных растений. Одним из таких растений является боярышник кроваво-красный.

Плоды и цветки боярышника являются официальным лекарственным растительным сырьем боярышника в Российской Федерации [55]. Биологически активные вещества, содержащиеся в боярышнике, усиливают кровообращение в венозных сосудах сердца, влияют на сердечно-сосудистую систему, обладают способностью уменьшать проницаемость и ломкость капилляров, участвуют в окислительно-восстановительных процессах. Лекарственные препараты, полученные из боярышника, применяются при различных функциональных нарушениях сердечной деятельности, ангионеврозах, при артериальной гипертензии, аритмиях [72, 87, 137, 193].

В мировой практике используются различные виды боярышников. Только в нашей стране произрастает около 40 дикорастущих видов [34,133]. В фармакопейных статьях «Плоды боярышника» и «Цветки боярышника» производящими растениями являются 12 видов боярышников, из которых на территории России произрастает 9 [55, 170]. В Республике Башкортостан в диком виде встречается только один вид - боярышник кроваво-красный (*Crataegus sanguinea* Pall.) [120].

Существующая сырьевая база боярышников в России не отвечает запросам фармацевтической промышленности [120]. Одним из путей решения данной проблемы является введение в практику нового вида сырья этого растения - листьев боярышника. В зарубежных странах данный вид сырья имеет большую практику применения. Так, побеги (листья с цветками, листья и цветки) боярышника включены в Европейскую, Немецкую, Британскую, Белорусскую, Французскую, Швейцарскую и Американскую травяную фармакопеи. Листья боярышника являются официальными в таких странах, как Франция, Бельгия, Польша, Германия, Болгария, Израиль, Беларусь [53, 286, 302, 372, 376].

Несмотря на длительную историю применения, исследование химического состава различных видов боярышников и их фармакологических свойств до сих пор является объектом изучения ученых различных стран (Украина, Беларусь, Литва, Германия, Китай, Корея, Словакия, Сербия, Индия, США, Италия, Португалия, Турция, Россия и др.) [53, 175, 176, 253, 254, 315, 340, 372].

За рубежом, в основном, исследуются такие виды боярышника, как боярышник колючий (сглаженный, обыкновенный), однопестичный, пятипестичный, перистонадрезанный.

Одной из основных групп БАВ в боярышнике, обуславливающие его фармакологические свойства являются флавоноиды. Так, были исследованы различные виды боярышников по качественному составу флавоноидов.

Плоды боярышника перистонадрезанного (син. китайского) *Crataegus pinnatifida* Bunge входят в китайскую Фармакопею. В настоящее время широко исследуется его химический состав и фармакологический свойства. Из плодов *Crataegus pinnatifida* Bunge выделены эпикатехин, процианидин В2, процианидин В5, процианидин С1, гиперозид, изокверцетрин, хлорогеновая кислота, олеаноловая и урсоловая кислота [296, 318].

Кроме флавоноидов исследовались и другие группы БАВ боярышников. Выделено 32 летучих соединения из плодов *Crataegus pinnatifida* Bunge, из которых преобладающими компонентами были цис-3-гексенол, цис-3-гексенил ацетат, α -терпинеол, фурфурал, гексанол, гексил ацетат, нонанал, цитраль, 3-пентен-2-он, транс-2-деценал [289].

В листьях *Crataegus pinnatifida* Bunge установлено присутствие пинна-тифина, кверцетина, 3-О- β D-глюкопиранозил кверцетина, 3-О- β D-галактопиранозил кверцетина, 3-О- β D-глюкопиранозил (6 $\rightarrow$ 1) - α -L-рамнозил кверцетина, 3-О- β D-галактопиранозил (6 $\rightarrow$ 1) - α -L-рамнозил кверцетина, кемпферола, 7-О- α -L-рамнозил 1-3-О- β -D-глюкопиранозил кемпферола, 8-С- β -D-(2"-О-ацетил)глюкофуранозилапигенина и 3"-О-ацетилвитексина, изовитексина, 6"-О-ацетилвитексина, 2-О-ацетилвитексина, 2"-О-рамнозилвитексина, гиперозида, рутина, кверцетин 3-О-[α -L-рамнопиранозил(1-4)- α -L-рамнопиранозил-(1-6)- β -глюкопиранозида], изовитексин 4"-О-глюкозида, хлорогеновой кислоты, урсоловой кислоты, β -ситостерина, β -даукостерола, n-триаконтанола [329, 379, 380].

В цветках *Crataegus monogyna* Jacq. обнаружены высшие спирты, альдегиды, фитостерины, каротиноиды, алкалоиды, углеводы (до 9,4%), фенолы, фенольные и жирные кислоты, высшие алифатические углеводы и спирты. Сложные

эффиры высших спиртов содержат количество углеродных атомов от C_{36} до C_{48} ; тритерпеноиды представлены урсоловой и олеаноловой кислотами [27, 305].

Из листьев и цветков *Crataegus monogyna* и *Crataegus pentagyna* изолированы и определены С- и О-флавоногликозиды: 2"-О-рамносил-ориентин, 2"-О-рамносилол-изоориентин, 2"-О-рамносил-изовитексин, рутин, спиреозид, 8-метокси-кемпферол и 8-метокси-кемпферол-3-О-глюкозид [347].

Для химического отличия официальных в Европе видов боярышников исследован с использованием хроматографических методов анализа качественный состав *Crataegus monogyna*, *Crataegus pentagyna* и *Crataegus oxyacantha*. Во всех видах обнаружены шесть флавоноидов - изовитексин-2"-О-рамнозид (1), витексин (2), изовитексин (3), рутин (4), гиперозид (5) и изокверцитрин (6). Кроме того, из *Crataegus pentagyna* выделены изоориентин (7) и ориентин (8), изоориентин-2"-О-рамнозид (9), ориентин-2"-О-рамнозид (10), изовитексин-2"-О-рамнозид (11) и 8-метоксикемпферол-3-О-глюкозид (12) с помощью ЯМР, масс-и УФ-спектров. Вещество 12 впервые было изолировано из *Crataegus pentagyna*. В отличие от *Crataegus pentagyna*, в *Crataegus monogyna* доминировал 4'''- ацетилвитексин - 2"-О - рамнозид (13), который отсутствовал в *Crataegus pentagyna*. Следовательно, флавоноид 13 представляет интерес для хроматографии *Crataegus monogyna*, тогда как основные флавоноиды 7, 8 и 12 могут быть предложены в качестве отличия для *Crataegus pentagyna*. Отсутствие флавоноидов 7, 8, 12 и 13 в *Crataegus oxyacantha* предлагается в качестве дополнительного отличия от *Crataegus monogyna*, *Crataegus pentagyna* и контроля качества трех главных видов боярышника, используемых в Европейской фармакопее [349].

Из флавоноидов в плодах, листьях, цветках *Crataegus tanacetifolia* Poir. установлено присутствие апигенина, кемпферола, кверцетина, гиперозида, витексина, 5-гидроксиауранетина, сантина, 7 - глюкозид апигенина, (-) и (+) эпикатехинов, 3-галактозида кемпферола, 4`- рамнозида витексина, 4`- рутинозида витексина [106, 338]. В сырье *Crataegus stevenii* Pojark. впервые выделен 4`,7-диметиловый эфир скутеллярина [106, 337]. Витексин-2``-О-рамнозид, витексин, гиперозид, рутин и кверцетин обнаружены в побегах *Crataegus monogyna* Jacq.

[315, 316], а в их пыльце 8-метоксикемпферол, 3-неогесперидозиди8-метоксикемпферол3-глюкозид, 8-метоксикемпферол и кемпферол3-неогесперидозид [297].

Установлено присутствие процианидинов тетрамеров, процианидинов В-2 и В-5 в листьях и цветках различных видов *Crataegus* spp. [366, 367].

При сравнительном анализе флавоноидного состава сырья и препаратов из сырья фармакопейных и нефармакопейных видов боярышника (крово-красного, сглаженного, даугавского, отогнуточашелистикового, германского, курземского, восточно-балтийского, однопестичного, Арнольда, мягковатого, овальнолистного, пенсильванского, остроколючего, канадского, миссурийского, Прингля, шамплейнского, шарлахововидного, крупноколючкового, Дугласа, вееровидного) установлено, что преобладающим компонентом в сумме флавоноидов цветков и лекарственных препаратов из сырья исследуемых видов боярышников является гиперозид. Методом ВЭЖХ было определено его количественное содержание, которое составило: в цветках фармакопейных видов - 1,338-1,735%, прибалтийских видов - 0,981-2,504%, североамериканских - 0,304-2,003%. Содержание гиперозида в плодах фармакопейных видов - 0,058-0,080%, прибалтийских - 0,060-0,090%, североамериканских - 0,024-0,110% [189, 191, 192].

Куркиным В.А. с соавторами в СамГМУ проведен сравнительный анализ спиртовых извлечений плодов, цветков и листьев *Crataegus sanguinea* Pall. и *Crataegus monogyna* Jacq. Авторами установлено, что в химическом составе сырья этих видов боярышника имеются существенные различия. С использованием хроматографических методов анализа установлено, в плодах боярышника крово-красного доминирует гиперозид. При проведении хроматографических исследований (ТСХ) авторами установлено, что для цветков боярышников однопестичного и крово-красного общими компонентами является гиперозид, а также пятно желтого цвета с R_f около 0,4. Кроме того, для цветков боярышника однопестичного характерно наличие вещества с R_f 0,6, проявляющегося раствором диазобензолсульфокислоты в виде пятна оранжевого цвета. В листьях боярышника крово-красного присутствует гиперозид, и три вещества с R_f 0,4, 0,5 и 0,6 соот-

ветственно, а в листьях боярышника однопестичного - рутин и вещество с Rf около 0,35, проявляющееся раствором диазобензолсульфокислоты лимонно-желтым цветом. При анализе тритерпеновых соединений оказалось, что состав исследуемых извлечений примерно одинаков [117].

При исследовании микроэлементного состава содержание микроэлементов (медь, цинк, марганец, хром, кадмий, свинец) в экстракте плодов, настойке и настое цветков боярышников сглаженного, курземского, дауговского, отогнуто-чашелистикового, германского, восточно-балтийского, однопестичного было приблизительно одинаково и значительно превышало соответствующие значения для настоя плодов боярышника. Установлен процент перехода микроэлементов в лекарственные препараты из исходного сырья (от 1,1 до 22,7% меди, цинка, марганца) [94, 95].

При исследовании аминокислотного состава различных видов сырья боярышника сглаженного оказалось, что качественный состав их идентичен, а количественное содержание различно: в цветках - 52,3 ммоль/кг, в листьях - 22,7 ммоль/кг, в плодах - 6,3 ммоль/кг. Также рентгенофлуоресцентным методом был изучен микроэлементный состав. Установлено, что цветки, плоды и листья избирательно накапливают медь и марганец. В цветках содержание меди $18,2 \pm 7,6$ мг/кг, марганца $33,7 \pm 19,1$ мг/кг; в листьях меди $10,7 \pm 2,7$ мг/кг, марганца $39,3 \pm 24,2$ мг/кг; в плодах меди $5,4 \pm 3,0$ мг/кг, марганца $27,5 \pm 18,6$ мг/кг [95, 190].

Исследовалась липофильная фракция плодов различных видов боярышника, разрешенных к применению, в которой обнаружены миристиновая (следовые количества), пальмитиновая (15,7 мг/%), стеариновая (4,2 мг/%), олеиновая (22,1 мг/%) и линолевая (58,2 мг/%) [69]. Также изучался химический состав липофильной фракции, полученной из шрота плодов боярышника. В ней обнаружены миристиновая (0,2%), пальмитиновая (14%), пальмитолеиновая (0,1%), стеариновая (4,2%), олеиновая (34,2%), линолевая (41,3%), линоленовая (0,1%) кислоты, а также урсоловая кислота, каротиноиды, фосфолипиды, алифатические высшие жирные кислоты [79]. Определялось содержание суммы фосфолипидов (ФЛ) и каротиноидов (К) в плодах боярышников однопестичного (ФЛ - 0,1413%, К -

1,7456 мг/%), отогнуточашелистикового (ФЛ - 0,0467%, К - 1,0734мг/%), алтайского (ФЛ - 0,0437%, К - 2,3381 мг/%), Арнольда (ФЛ - 0,0397%, К - 0,5756мг/%), вееровидного (ФЛ - 0,1770%, К - 3,3905 мг/%) [70].

Кроме отечественных боярышников исследовался химический состав зарубежных видов. Гончаровым Н.Ф. с соавторами в плодах боярышников украинского, однопестичного, арканзасского, Робсона, Джека, Факсона, зеленого, шарлаховидного и боярышника петушья шпора обнаружены гидроксикумарины, флавоноиды, дубильные вещества, тритерпеновые сапонины, гидроксикоричные кислоты, и аминокислоты. Выделены витексин, гиперозид, биокверцетин, кофейная, хлорогеновая и неохлорогеновая кислоты [50, 51]. При исследовании химического состава боярышников желтого и круглолистного в их плодах, цветках и листьях идентифицированы хлорогеновая, неохлорогеновая, феруловая и кофейная кислоты [47]. Данными авторами исследовалась и липофильная фракция плодов 5 североамериканских видов *Crataegus viridis* Sarg., *C. mollis* (Torr. et Grey) Schelle, *C. flabellata* (Bosc) C. Koch ., *C. densiflora* Sarg. и *C. arkansana* Sarg.. В липофильной фракции, полученной экстракцией хлороформом, установлено присутствие хлорофиллов, каротиноидов и 11 жирных кислот, из которых линолевая и линоленовая являются незаменимыми. Доминирующими во всех видах являются пальмитиновая, олеиновая, стеариновая и линолевая кислоты. Декановая и лауриновая кислоты обнаружены в *C. viridis*; тридекановая – в *C. viridis* и *C. mollis*; пентадекановая – *C. viridis* и *C. flabellata*; гептодециновая – в *C. viridis* и *C. mollis* [48].

В эфирном масле, полученном из цветков боярышников канадского и мягковатого, установлено присутствие таких монотерпенов и ароматических соединений, как линалоол и его оксидов, α -терпинеол, гераниол, нерол, тимол и карвакрол [49].

У боярышника кроваво-красного исследовался, в основном, химический состав плодов и цветков. Различными исследователями в цветках, плодах и листьях данного вида найдены флавоноиды в виде агликонов и гликозидов (биокверцетин, апигенин, кетогексофуранозид апигенина, 7-глюкозид апигенина, витексин, витексин-2''-О-рамнозид, ацетилвитексин, 4'-рамнозид витексина, 4'-рутинозид ви-

тексина, пиннатифидин, лютеолин, глюколитеолин, лютеолин-5-рутинозид, ориентин, кверцетин, кверцитрин, рутин, гиперозид, кемпферол, 3-галактозид кемпферола, 8-метоксикемпферол и др.), а также антоцианов - пеонидина, цианидина [91, 92, 93, 170, 175, 176].

В цветках и плодах боярышника кроваво-красного также обнаружены кофейная и хлорогеновая кислоты, дубильные вещества, представляющие собой димеры катехина и L-эпикатехина (процианидины), тритерпеновые кислоты (урсоловая, олеаноловая и кретеговая). В плодах содержатся высшие жирные кислоты (миристиновая, пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая), β -ситостерин, даукостерин, пектины, лимонная, винная, яблочная, янтарная кислоты, оксикумарины, сахара, сорбит, каротиноиды, амины (ацетилхолин, холин, триметиламин, фенилэтиламин, тирамин, о-метоксифенилэтиламин) [118, 170, 176, 254, 378].

Боярышник остается одним из лекарственных растений, имеющего достаточно длительную историю применения в европейской медицине [340]. В Германии листья с цветками боярышника включены в Немецкую Фармакопею [285]. Немецкая комиссия Е (Комиссия Е в Германии была создана при поддержке правительства в 1978 г, в состав которой входили ученые, токсикологи, врачи и фармацевты. Комиссией Е были выпущены монографии, где дается научное обоснование для использования более 300 лекарственных растений, которые ранее использовались в традиционной, народной медицине) в 1984 году опубликовала монографию на боярышник. Она включала в себя описание всех сырья растения, опыт применения в традиционной медицине, фармакологические испытания препаратов из различных видов сырья боярышника, около 20 открытых клинических испытаний и частных клинических случаев. Основными показаниями к применению препаратов боярышника явились 1 и 2 стадия хронической сердечной недостаточности, давление в груди, сердечная недостаточность, не требующая длительной терапии, и легкая форма брадикардии [364]. В этот период с 1981 г по 1994 г опубликовано 14 клинических исследований терапевтической эффективности препаратов боярышника на 808 пациентах [358]. В 1994 году эта монография

была заменена на 4 утвержденные монографии на листья боярышника с цветками и 3 - на листья, цветки и плоды. В Германии боярышник показан при сердечной недостаточности в случаях, когда не показано применение препаратов на основе наперстянки [281]. Проводилось плацебо-контролируемое, рандомизированное, двойное слепое исследование экстракта листьев с цветками боярышника (*Crataegutt forte*). В стандартных испытаниях на выносливость, оценке субъективных жалоб, толерантности к физической нагрузке, изменению артериального давления в группе, принимавшей боярышник, были получены статистически значимые результаты, показывающие преимущество экстракта боярышника в сравнении с плацебо [324].

При исследовании фармакологических свойств экстракта листьев с цветками боярышника на больных с начальной степенью хронической сердечной недостаточности, результаты показали улучшение работы сердца, уменьшение одышки и устойчивость к физической нагрузке. Описаны 15 клинических испытаний на 872 пациентах, получавших стандартизованный экстракт боярышника (160-900 мг), содержащий до 5% олигомерных процианидинов и до 2,2% флавоноидов. При применении 300-900 мг в сутки в течение 4 недель, и в большей степени после 8 недель наблюдалось улучшение стрессоустойчивости и увеличение анаэробного порога. Субъективные жалобы проходили при приеме более низких доз: 160-180 мг в сутки [352].

При сравнении экстракта боярышника с каптоприлом у пациентов со 3 стадией хронической сердечной недостаточности, препараты показали одинаково хорошие результаты снижения артериального давления. Преимуществом экстракта боярышника стало положительное влияние на работу сердца [369].

После проведения плацебоконтролируемого исследования комбинированного препарата «*Crataegutt novo*», содержащего экстракт листьев, плодов и цветков боярышника, которое показало у пациентов улучшение показателей электрокардиограммы, усиление притока кислорода к миокарду и отсутствие приступов стенокардии, препараты боярышника стали назначаться при стенокардии [309].

На основе боярышника предложено более 100 зарубежных кардиотонических, коронарорасширяющих и антигипертензивных препаратов в виде водно-спиртовых жидких и сухих экстрактов [285].

Фармакологические свойства боярышников исследовались и отечественными исследователями. Фундаментальные исследования были проведены во второй половине 20 века Гусейновым Д.Я., на основании которых им была опубликована монография. Исследовались фармакологические свойства плодов различных видов боярышников, произрастающих на территории Азербайджанской ССР (согнутостолбиковый, кавказский, восточный, мелколистный, ложноразнолистный, Мейера, Шовица, пятипестичный, волосистоцветковый). Автором были получены различные извлечения и суммы биологически активных веществ. Сумма сапонинов, сумма флавоноидов, сумма антоцианов и жидкий экстракт плодов боярышника пятипестичного оказывали выраженное антиаритмическое действие. Жидкий экстракт плодов данного вида боярышника снижал содержание холестерина в крови в пределах 77-86 % и увеличивал лецитин-холестериновый коэффициент до исходного состояния, уменьшал артериальное давление на 55 %, замедлял ритм сердечных сокращений на 34 %, увеличивал коронарный кровоток в 2 раза с одновременным понижением поглощения кислорода сердечной мышцей на 109 %. Наиболее активными оказались сумма флавоноидов и сумма сапонинов, терапевтический эффект которых наступал быстро и в малых дозах. Жидкий спиртовой экстракт плодов боярышника пятипестичного вызывал значительное увеличение желчеотделения (на 62-141%) [64].

Исследовалось влияние экстракта плодов боярышника на мозговое кровообращение. Хаятуллой Насрулла Масуди в опытах на крысах было установлено, что экстракт боярышника понижал тонус мозговых сосудов, что способствовало увеличению мозгового кровотока при неизменном артериальном давлении. Экстракт боярышника у животных с ишемией головного мозга способствовал восстановлению нарушений ауторегуляции мозгового кровотока в постишемическом периоде [252].

Кавериной Н.В. с соавторами исследовалась антиаритмическая активность различных препаратов (экстракт плодов, настойка цветков, настойка плодов, настой цветков, настой плодов и сумма флавоноидов из плодов и из цветков) из фармакопейных видов *C. sanguinea* Pall., *C. laevigata* (Poir.) DC. (*C. oxyacantha* sensu Pojark.), *C. chlorocarpa* Lenneet C. Koch, *C. korolkowii* L. Henry, *C. dahurica* Koehneet Schneid., *C. monogyna* Jacq., близкородственных им видов, произрастающих на территории Прибалтики, а также интродуцированных североамериканских видов. Выраженное антиаритмическое действие оказывали настойка цветков и экстракт плодов. Все препараты обладали практически одинаковой специфической антиаритмической активностью [87].

Изучалось влияние настоек боярышника, полученных различными методами, на биоэлектрическую активность миокарда у кроликов и на модели акотининовой аритмии. Оказалось, что все препараты обладали выраженным брадикардическим действием и увеличивали амплитуду зубца R и обладают антиаритмическим действием [124, 125].

Установлена антиаритмическая активность препаратов из сырья боярышников туркестанского, понтийского, гиссарского, однопестичного. Наиболее выраженным антиаритмическим действием обладал жидкий экстракт плодов [3, 4].

При исследовании фракций из шрота плодов боярышника была определена их токсичность. Они оказались относительно безвредные. Различные фракции показали различной силы гипотензивное и седативное действие. Одна из фракций оказала умеренное улучшение мозгового кровообращения, антигипоксическое, мембраностабилизирующее и антиоксидантное действие [132].

Установлены болеутоляющие и антигипоксические свойства у листьев, цветков и плодов боярышника кроваво-красного [196, 228].

Недавние исследования показали эффективность плодов китайского боярышника *Crataegus pinnatifida* Bunge в снижении уровня холестерина в крови и риска сердечно-сосудистых заболеваний. Также установлены антиоксидантные, противовоспалительные и противоопухолевые свойства [318].

У гиперозида, основного флавоноида боярышников, в т.ч. *Crataegus pinnatifida* Bunge, установлено влияние на патогенез аллергических реакций. В эксперименте под действием гиперозида обнаружено снижение в тучных клетках концентрации внутриклеточного кальция, интерлейкина- 1β и интерлейкина-6, содержания белка, что позволяет рекомендовать гиперозид в качестве потенциального средства для лечения аллергических реакций [308]. В эксперименте у гиперозида установлено противовоспалительные свойства и выяснен его механизм действия. Оказалось, что он действует через ингибирование фактора некроза опухоли, интерлейкина-6 и оксида азота [322].

Исследовано влияние пектинов (пентаолигосахарида), выделенных из *Crataegus pinnatifida* Bunge, на ферментную систему в эксперименте на мышах, получающих жирную пищу. На основании проведенных исследований сделаны выводы, что их можно использовать в качестве диетотерапии для профилактики ожирения и сердечно-сосудистых заболеваний [326].

Выявлена антитромботическая активность *in vitro* на модели агрегации тромбоцитов в плазме крови крыс двух новых соединений, выделенных из *Crataegus pinnatifida* Bunge: сесквитерпена - (1 α ,4 $\alpha\beta$,8 $\alpha\alpha$)-1-изопропанол-4 α -метил-8-метилендекаидронафтален, и фенилпропаноида - трео-2-(4-гидрокси-3,5-диметоксифенил)-3-(4-гидрокси-3-метоксифенил)-3-этоксипропан-1-ол [383].

Также изучено влияние экстракта и фракций флавоноидов листьев *Crataegus pinnatifida* Bunge на метаболизм глюкозы и липидов. Авторами показано, что они способны снижать выработку глюкозы и синтез триацилглицеридов, и могут быть использованы для диетотерапии у больных сахарным диабетом 2 типа и в качестве гиполипидемических средств [359, 374].

Исследовалось влияние экстракта *Crataegus oxyacantha* L. и *C. monogyna* Jacq., содержащего смесь флавоноидов и процианидинов, на сосудистое русло аорты крыс. Оказалось, что флавоноиды – компоненты экстракта: рутин, изовиктексин, гиперозид не влияли на сосудистый тонус, а у процианидинов обнаружено влияние на эндотелий сосудистого русла в изолированной аорте крыс через активацию тетраэтиламмониевых чувствительных K^+ каналов [321].

У спиртового экстракта *Crataegus oxyacantha* L. в эксперименте на крысах установлен нейропротекторный и иммуномодулирующий эффект и механизм нейропротекции. Использование экстракта боярышника минимизирует апоптоз клеток, воздействуя на STAT-3 фосфорилирование и Bcl-xL экспрессию в головном мозге и может играть решающую роль в нейропротекции при инсульте [300].

При исследовании этанольного экстракта *Crataegus oxyacantha* L. и *C. monogyna* Jacq. выявлены противовоспалительные, гастропротективные и антимикробные свойства. При пероральном введении наблюдали дозозависимый противовоспалительный эффект на модели каррагинан индуцированном отеке лапы крыс. По сравнению с индометацином, показали 72,4% . Гастропротективную активность экстракта исследовали на модели стресс индуцированной язвы у крыс. Экстракт боярышника обладал дозозависимой гастропротективной активностью, сравнимой с эффективностью препарата сравнения (ранитидина). Антимикробное тестирование экстракта показали его умеренный бактерицидный эффект, особенно в отношении грамположительных бактерий *Micrococcus flavus*, *Bacillus subtilis* и *Listeria monocytogenes*, не влияя на *Candida albicans* [370].

В эксперименте на различных моделях доказано антиоксидантное действие экстракта плодов *Crataegus monogyna* Jacq. и *Crataegus pentagyna* Waldst. и прямая зависимость антиоксидантной активности от концентрации фенольных соединений [276, 287, 332, 351].

У экстракта *Crataegus monogyna* Jacq. изучен механизм отрицательного хронотропного действия на культивируемых кардиомиоцитах. Оказалось, что хронотропный эффект осуществляется через активацию мускариновых рецепторов [356].

Куркиным В.А. с соавторами в СамГМУ исследовалась диуретическая активность жидкого экстракта из плодов боярышника кроваво-красного. Установлено, что препарат в дозе 100 мг/кг за 4 ч эксперимента значительно увеличивает диурез исключительно за счет канальцевого эффекта, а через 24 ч опыта – за счет клубочкового и канальцевого компонентов [115]. Этими же авторами в экспери-

менте на животных выявлены антидепрессивные свойства густого экстракта плодов боярышника кроваво-красного [114].

В мировой практике боярышник является одним из самых популярных и используемых растений в кардиологии. В настоящее время в России используются более 30 лекарственных препаратов, в состав которых входит боярышник. В Государственном реестре лекарственных средств России зарегистрированы следующие лекарственные препараты на основе сырья боярышника (таблица 1.5.1.) [265, 269]:

Таблица 1.5.1 - Лекарственные препараты на основе сырья боярышника

№	Наименование препарата	Сырье	Фармако-терапевтическая группа, показания к применению	Страна-производитель
1.	Боярышника плоды - цельное сырье - порошок	Плоды боярышника	Кардиотоническое средство растительного происхождения	Россия
2.	Боярышника настойка	Плоды боярышника	Кардиотоническое средство растительного происхождения при функциональных нарушениях сердечной деятельности, кардиалгии, климактерических расстройствах	Россия
3.	Боярышника плодов экстракт сухой	Плоды боярышника	Кардиотоническое средство растительного происхождения	Россия
4.	Боярышника цветки - сырье - порошок	Цветки боярышника	Кардиотоническое средство растительного происхождения в комплексной терапии функциональных нарушениях сердечно-сосудистой деятельности (НЦД, кардиалгия)	Россия
5.	Боярышника экстракт сухой	Цветки боярышника	Кардиотоническое средство растительного происхождения	Швейцария
6.	Боярышника экстракт жидкий	Плоды боярышника	Кардиотоническое средство растительного происхождения	Россия
7.	Боярышника таблетки для рассасывания	Плоды боярышника	Кардиотоническое средство растительного происхождения в комплексной терапии функцио-	Нидерланды

			нальных нарушениях сердечно-сосудистой деятельности (НЦД, кардиалгия)	
8.	Боярышник Алкой настойка	Плоды боярышника	Кардиотоническое средство растительного происхождения в комплексной терапии функциональных нарушениях сердечно-сосудистой деятельности, кардиалгиях, климактерическом синдроме, астено-невротических состояниях	Россия
9.	Алтайский эликсир	Комплекс экстрактов 24 лекарственных растений (в т.ч. плодов боярышника, цветков боярышника)	Общетонизирующее средство растительного происхождения для повышения умственной и физической работоспособности, астенических состояниях	Россия
10.	Ангионорм, таблетки	Экстракт плодов боярышника, экстракт семян каштана конского, экстракт корня солодки голой	Ангиопротекторное средство при тромбозах, варикозном расширении вен, тромбофлебитах	Россия
11.	Броменвал, капли	Боярышника плодов настойка, валерианы лекарственной корневищ с корнями настойка	Седативное средство при неврозах, НЦД	Россия
12.	Валемидин, капли	Боярышника плодов настойка, валерианы лекарственной корневищ с корнями настойка, мяты перечной листьев настойка, пустырника травы настойка	Седативное средство при неврозах и НЦД по гипертоническому типу	Россия
13.	Валеодикрамен, капли	Боярышника плодов настойка, валерианы лекарственной корневищ с корнями настойка, мяты перечной листьев настойка, пустырника травы настойка	Седативное средство при неврозах, НЦД по гипертоническому типу	Россия
14.	Герботон, Настойка	Плоды боярышника, плоды клюквы, плоды шиповника, корневища с корнями элеутерококка, плоды черной смородины, трава эхинацеи пурпурной	Общетонизирующее средство растительного происхождения для повышения резистентности организма, умственной и физической работоспособности	Россия
15.	Гипертонплант	Боярышника плоды,	Седативное средство при	Россия

	(гнафалин), сбор	трава сушеницы топяной, трава пустырника корневища с корнями валерианы лекарственной, трава горца птичьего, листья мяты перечной, листья подорожника большого	неврозах, кардиалгиях, НЦД по гипертоническому типу	
16.	Доктор Тайсс Геровитал, эликсир	Экстракт плодов, листьев и цветков боярышника, экстракт пустырника, витамины и микроэлементы	Поливитаминовое средство, прочие препараты	Германия
17.	Доппельгерц Виталотоник, раствор	Жидкий экстракт листьев и цветков боярышника жидкий экстракт соплодий хмеля жидкий экстракт корневищ с корнями валерианы лекарственной жидкий экстракт травы мелиссы лекарственной жидкий экстракт корней женьшеня настоящего	Общеукрепляющее и седативное средство растительного происхождения при астении, переутомлении, неврастеническом синдроме	Германия
18.	Доппельгерц Кардиовитал, таблетки	Сухой экстракт листьев с цветками боярышника	Кардиотоническое средство растительного происхождения в комплексной терапии хронической сердечной недостаточности	Германия
19.	Доппельгерц Энерготоник, эликсир	Настойка омелы белой, настойка травы зверобоя продырявленного, настойка травы тысячелистника обыкновенного, настойка плодов боярышника, настойка корней дудника, настойка корневищ с корнями валерианы лекарственной, настойка соплодий хмеля, настойка кожуры поморанца, масло листьев шалфея лекарственного, масло листьев и стеблей розмарина, масло листьев мелиссы, ароматическая настойка из коры коричневого дерева, корневищ имбиря, корневищ альпийки, бутонов	Общеукрепляющее средство при гиповитаминозах, интенсивных умственных и физических нагрузках	Германия

		гвоздики, плодов кардамона		
20.	Демидовский сироп	Аира корневищ экстракт, бадана корневищ экстракт, березы почек экстракт, боярышника плодов экстракт, дуба коры экстракт, душицы обыкновенной травы экстракт (всего 17 видов)	Общетонизирующее и желчегонное средство растительного происхождения	Россия
21.	Кардиовален, капли	Адонизид, боярышника плодов экстракт, валерианы лекарственной корневищ с корнями настойка, желтушника серого сок	Кардиотоническое средство растительного происхождения при НЦД, комплексной терапии хронической сердечной недостаточности	Россия
22.	Кардиотрон, раствор	Настойка ландыша, экстракт боярышника жидкий, экстракт листьев крапивы жидкий	Кардиотоническое средство растительного происхождения при функциональных нарушениях сердечно-сосудистой системы	Россия
23.	Кедровит, эликсир	Аронии черноплодной плоды, березы почки, боярышника плоды, боярышника цветки, сосны кедровой сибирской орех	Общетонизирующее средство растительного происхождения	Россия
24.	Клиофит, эликсир	Плоды аниса обыкновенного, плоды боярышника, цветки календулы лекарственной, трава кипрея, плоды кориандра, листья мяты перечной, листья подорожника большого, трава пустырника, цветки ромашки аптечной, корни солодки голой, семена сосны кедровой сибирской, плоды тмина обыкновенного, трава тысячелистника обыкновенного, хмеля соплодия, березовый гриб (чага), трава череды трехраздельной, плоды шиповника, корневища с корнями эле-	Противоклиматическое средство растительного происхождения при климактерическом синдроме	Россия

		утерококка		
25.	Кравалеон, капли	Адонизид, жидкий экстракт боярышника, настойка валерианы, жидкий экстракт травы желтушника	Седативное средство растительного происхождения в комплексной терапии функциональных расстройств сердечно-сосудистой системы, кардиалгии, повышенной нервной возбудимости	Россия
26.	Кратал (Таукрат), таблетки	Экстракт плодов боярышника, экстракт травы пустырника	Кардиотоническое средство растительного происхождения, применяемое в комплексной терапии НЦД	Украина
27.	Крегиум, таблетки	Сухой экстракт листьев с цветками боярышника	Кардиотоническое средство растительного происхождения, применяемое при сердечной недостаточности	Германия
28.	Ново-пассит, таблетки, раствор	Корневища с корнями валерианы лекарственной, трава мелиссы лекарственной, трава зверобоя продырявленного, листья и цветки боярышника однопестичного или колючего, трава пассифлоры инкарнатной, соплодия хмеля обыкновенного, цветки бузины черной	Седативное средство растительного происхождения при неврозах, неврастениях и неврозоподобных состояниях, мигрени, бессоннице, головных болях, зудящих дерматитах	Чешская Республика
29.	Пассифит, сироп	Густой экстракт валерианы жидкий экстракт шишек хмеля, жидкий экстракт чабреца, настойка боярышника, настойка мяты	Седативное средство растительного происхождения при повышенной нервной возбудимости, нарушениях сна	Россия
30.	Седофлор, настойка	Боярышника плоды, Донника трава, Кориандра плоды Мелиссы лекарственной трава, Овса посевного зерно, Пустырника трава, Хмеля соплодия	Седативное средство растительного происхождения при неврозах и неврозоподобных состояниях	Украина
31.	Симпатил, таблетки	Сухой экстракт эшшольции, сухой экстракт боярышника	Седативное средство растительного происхождения при состоянии эмоционального напряжения и стресса, нарушении сна	Франция
32.	Фито Ново-Сед, жидкий экстракт	Боярышника плоды, Мелиссы лекарственной трава, Пустырника трава, Шиповника плоды, Эхинацеи пурпурной трава	Седативное средство растительного происхождения при невротических состояниях	Россия

33.	Фиторелакс, таблетки	Сухой экстракт валерианы, сухой экстракт цветков боярышника	Седативное средство растительного происхождения при повышенной нервной возбудимости, в комплексной терапии функциональных нарушениях сердечно-сосудистой деятельности, кардиалгии, астено-невротических состояниях	Нидерланды
34.	Эвалар, эликсир	Цветки бессмертника песчаного, плоды боярышника, трава зверобоя продырявленного, плоды каштана конского, орех кедровый, плоды клюквы, плоды кориандра, слоевища ламинарии, корневища с корнями левзеи сафлоровидной, листья мяты перечной, пантокрин, листья подорожника большого, корневища с корнями родиолы розовой, цветки ромашки аптечной, плоды рябины, корни солодки голой, трава тысячелистника обыкновенного, плоды шиповника, корневища с корнями элеутерококка	Общетонизирующее средство растительного происхождения для повышения умственной и физической работоспособности	Россия

Из 34 лекарственных препаратов (таблица 1.5.1.), содержащих сырье боярышника и разрешенных к медицинскому применению в России, 4 препарата содержат листья или листья и цветки боярышника (Доктор Тайсс Геровитал, Доппельгерц Виталотоник, Доппельгерц Кардиовитал, Крегиум – страна-производитель Германия). Но в нашей стране на данный вид сырья нет нормативной документации. Следовательно, углубленное исследование листьев боярышника для внедрения в медицинскую практику является важной задачей отечественной фармации.

Выводы по главе 1

Обобщение и анализ данных литературы показал, что использование природных антиоксидантов имеет большие перспективы применения при заболеваниях, в патогенезе которых лежит оксидантный стресс. Заболеваемость и смертность от сердечно-сосудистых заболеваний приобретает все более широкие масштабы и требует проведения активной антиоксидантной профилактики в ежедневной клинической практике, что может служить важнейшим условием снижения смертности в стране.

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что в практической медицине используются лекарственные растения и сборы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Однако надо отметить, что их применение ограничивается симптоматической терапией. Не достаточно исследованы вопросы использования растительных антиоксидантов в комплексном лечении сердечно-сосудистых заболеваний и применения наряду с лекарственными препаратами многокомпонентных растительных сборов, ассортимент которых в настоящее время достаточно ограничен. Это подтверждает целесообразность проводимых исследований по разработке новых лекарственных растительных средств, которые могут реализовать все основные направления лечения сердечно-сосудистых заболеваний, одним из которых является антиоксидантная терапия.

Поэтому разработка растительных средств на основе новых видов лекарственного растительного сырья и многокомпонентных растительных сборов, одновременно действующих на различные звенья патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе окислительный стресс, имеющих возможность длительного применения в целях профилактики, лечения и в реабилитационный период, их стандартизация и исследование биологической активности является актуальным направлением научных исследований.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Объектами фармакогностического исследования явились листья боярышника кроваво-красного и 20 официальных видов лекарственного растительного сырья, на основе которых были разработаны сборы - при нарушении мозгового кровообращения, названный «Ангиофит-НМК», сбор для профилактики и лечения ишемической болезни сердца, получивший название «Кардиофит-ИБС». В состав сборов вошли следующие виды лекарственного растительного сырья, разрешенные к применению в медицинской практике [37, 55, 57, 230, 231, 232, 233, 234]:

- плоды боярышника (*fructus Crataegi*) - ст. 32, ГФ XI-го издания,
- трава пустырника (*herba Leonuri*) - ст. 54 ГФ XI-го издания,
- шишки хмеля (*strobili Lupuli*) - ГОСТ 21946-76,
- листья мяты перечной (*folia Menthae piperitae*) - ст. 18, ГФ XI-го издания,
- трава донника (*herba Meliloti*) - ФСП 42-0330168301,
- корневища и корни девясила (*rhizomata et radices Inulae*) - ст. 73, ГФ XI-го издания,
- плоды аронии черноплодной (*fructus Aroniae melanocarpae*) - ФС 85-308-5,
- трава золототысячника (*herba Centaurii*) - ст. 48, ГФ XI-го издания,
- листья земляники лесной (*folia Fragariae vescae*) - ФС 42-134-72,
- трава Melissa лекарственной (*herba Melissa officinalis*) - ФС 96-282-10,
- трава полыни обыкновенной (*herba Artemisiae vulgaris*) - ФС 42-2094-83,
- столбики с рыльцами кукурузы (*styli cum stigmatibus Zeae maidis*) - ст. 82, ГФ XI-го издания,
- плоды рябины (*fructus Sorbi*) - ст. 39, ГФ XI-го издания,
- плоды тмина (*fructus Carvi*) - ст.31, ГФ XI-го издания,
- плоды шиповника (*fructus Rosae*) - ст.38, ГФ XI-го издания,
- корень солодки (*radix Glycyrrhizae*) - ст.31, ГФ X-го издания,
- трава барвинка малого (*herba Vincae minoris*) - ВФС 42-1728-87,

- трава сушеницы топяной (*herba Gnaphalii uliginosi*) - ст.51, ГФ XI-го издания,
- листья подорожника большого (*folia Plantaginis majoris*) - ст.20, ГФ XI-го издания,
- цветки ромашки (*flores Chamomillae*) - ст.7, ГФ XI-го издания.

Объектами скрининга фармакологических исследований при разработке составов сборов стали 25 видов лекарственного растительного сырья: плоды боярышника (*fructus Crataegi*), трава пустырника (*herba Leonuri*), соплодия хмеля (*strobili Lupuli*), листья мяты перечной (*folia Menthae piperitae*), трава донника (*herba Meliloti*), корневища и корни девясила (*rhizomata et radices Inulae*), плоды аронии черноплодной (*fructus Aroniae melanocarpae*), трава золототысячника (*herba Centaurii*), листья земляники лесной (*folia Fragariae vescae*), трава Melissa лекарственной (*herba Melissae officinalis*), трава полыни обыкновенной (*herba Artemisiae vulgaris*), столбики с рыльцами кукурузы (*styli cum stigmatibus Zeae maidis*), плоды рябины (*fructus Sorbi*), плоды тмина (*fructus Carvi*), плоды шиповника (*fructus Rosae*), корень солодки (*radix Glycyrrhizae*), трава барвинка малого (*herba Vincae minoris*), трава сушеницы топяной (*herba Gnaphalii uliginosi*), листья подорожника большого (*folia Plantaginis majoris*), цветки ромашки (*flores Chamomillae*), корни одуванчика (*radices Taraxaci*), плоды аниса обыкновенного (*fructus Anisi vulgaris*), семена льна (*semina Lini*), цветки липы (*flores Tiliae*), трава тысячелистника (*herba Millefolii*).

Листья боярышника кроваво-красного (*folia Crataegi sanguineae* Pall.) были собраны в разные сроки вегетации растения в районах Республики Башкортостан в течение 2008-2012 годов. В ходе исследования были проанализированы 45 образцов листьев боярышника кроваво-красного, а также 30 образцов цветков и плодов, которые являлись объектами сравнения. Отбор проб для анализа, изучение характеристик подлинности и показателей качества осуществляли, руководствуясь общими статьями ГФ XI [55, 56].

Все виды сырья (кроме листьев боярышника кроваво-красного) были приобретены в аптечных учреждениях Государственного унитарного предприятия

«Башфармация» и ООО «Фитоцентр Гордеева» и проанализированы с целью установления соответствия их качества требованиям нормативной документации.

Использовалось ЛРС следующих производителей: плоды боярышника, соплодия хмеля, листья мяты перечной, трава донника, корневища и корни девясила, трава золототысячника, трава мелиссы лекарственной, столбики с рыльцами кукурузы, плоды рябины, корень солодки, листья подорожника большого, цветки ромашки, семена льна, цветки липы - ОАО «Красногорсклексредства». Трава пустырника, плоды шиповника, корни одуванчика – производитель Ст.-Медифарм ЗАО; плоды тмина – производитель ЗАО Фирма «Здоровье»; трава сушеницы топяной, плоды аниса обыкновенного – производитель ЗАО «Иван-чай»; трава тысячелистника – производитель ООО «Лек С+»; плоды аронии черноплодной, листья земляники лесной, трава барвинка малого - производитель ООО «Фитоцентр Гордеева»; трава полыни обыкновенной – производитель ООО «Азбука трав».

Объектами химических и технологических исследований служили водные извлечения, настойки и жидкие и густые экстракты, полученные из сборов и листьев боярышника кроваво-красного. При выполнении работы были использованы следующие растворители, соответствующие требованиям нормативной документации: 95% этиловый спирт (ФС 42-3072-00), вода очищенная (ФС 42-0324-09).

2.2. Методы исследования

2.2.1. Определение подлинности сырья

Макроскопический анализ компонентов сборов и листьев боярышника кроваво-красного проводили при осмотре листьев боярышника кроваво-красного и составных компонентов сборов в аналитической пробе визуально и с помощью лупы (10х) [56]. Микроскопический анализ проводили согласно статье ГФ XI

«Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья», а также в статьях «Species», «Herba», «Fructus», «Folia», «Flores», «Radices», «Rhizomata» и частных статьях на сырье [55].

Микроскопические признаки объектов исследования приведены на фото-снимках, полученных с помощью цифрового фотоаппарата Canon A400 и видео-насадки микровизора MVZ-103.

С использованием микроскопического анализа проводили стандартизацию объектов исследования посредством количественной оценки проявления диагностически значимых признаков [164].

Для анализа использовали порошки, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 0,5 мм. Наблюдение проводили с использованием микроскопа «Минимед - 501» при увеличении 10×4; 10×10; 10×40 и микровизора MVZ-103 при увеличении 20×4; 20×10; 20×40, 20×80. Анализ проб проводили по методике разработанной И. А. Самылиной, О. Г. Потаниной [165].

2.2.2. Методы определения качества растительного сырья

Потерю в массе при высушивании объектов исследования проводили по ОФС «Потеря в массе при высушивании»[151].

Общую золу определяли по ГФ XII (ч. 1) в пересчете на абсолютно сухое сырье, в процентах [54].

Содержание примесей и степень измельченности определяли согласно методикам ГФ XI (ч.1) [56].

Срок годности устанавливали в соответствии со ст. 40 ГФ XII «Сроки годности лекарственных средств» [54]. Стабильность сырья в различных видах упаковки и в разных условиях хранения изучали путем периодического и систематического контроля влажности сырья и количественного содержания флавоноидов.

Микробиологическую чистоту объектов исследования устанавливали согласно ст.32 ГФ XII «Микробиологическая чистота» [54].

Радиологическую чистоту исследуемых объектов проводили в соответствии с ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

2.2.3. Методы фитохимического анализа

Объекты исследования содержат различные группы биологически активных веществ. Качественный, количественный состав и идентификацию природных биологически активных веществ, содержащихся в объектах исследования, оценивали с использованием современных методов анализа.

2.2.3.1. Методы качественного анализа биологически активных веществ

Качественные реакции

На *фенольные соединения* проводили реакцию с железа (III) хлоридом. Образование окраски говорило о наличии флавонолов (темно-зеленая), флавононов (коричневая), флавонов (красновато-бурая).

Обнаружение *флавоноидов* проводили по известным методикам [111, 122]: цианидиновая проба (проба *Chinoda*), с реактивом Вильсона, реакция с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида.

Для качественного подтверждения *сапонинов* проводили следующие реакции [111, 122]: реакция пенообразования, реакция с ацетатом свинца, реакция Санье, реакция Фонтан-Кандела.

Для обнаружения *кумаринов* проводились качественные реакции [111, 122]: лактонная проба, реакция с диазореактивом.

Для обнаружения *дубильных веществ* проводились качественные реакции: реакции с 1% раствором желатина, с ЖАК, с 10%-ной уксусной кислотой и 10%-ной средней солью ацетата свинца [111].

Для обнаружения *полисахаридов* их осаждали из водного извлечения трехкратным объемом этилового спирта [55]. Для выделения *полисахаридов* использовали методику последовательного фракционного выделения полисахаридов [107].

Присутствие *аскорбиновой кислоты* в настоях объектов определяли методом ТСХ в системе этилацетат-уксусная кислота (8:2). Хроматограммы проявляли 0,04% водным раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия. Аскорбиновая кислота обнаруживалась в виде белого пятна на розовом фоне. Параллельно с испытуемым раствором наносили пробу стандартного образца (СО) аскорбиновой кислоты [122].

Алкалоиды извлекали из сырья 1-5 % раствором хлористоводородной кислоты и проводили следующие реакции: реакция с танином, реакция с пикриновой кислотой, реакция с реактивом Зонненштейна, реакция Ван-Урка [41, 97, 111, 122].

Хромоны обнаруживали в сырье при помощи микрохимических реакций. С концентрированными кислотами (серной, хлористоводородной, *о*-фосфорной) хромоны образуют оксониевые соли, окрашенные в лимонно-желтый цвет. В реакциях с концентрированными щелочами хромоны приобретают пурпурно-красное окрашивание [97, 111].

Для идентификации *антрагликозидов* в лекарственном растительном сырье проводили реакцию *Борнтрегера* [97, 111].

Метод бумажной хроматографии и в тонком слое сорбента

Хроматографическое исследование суммы фенольных соединений в объектах исследования проводили методом круговой бумажной хроматографии (БХ) на бумаге марки

«С» и «М» и восходящей хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) на пластинках «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ», «Собфил ПТСХ-АФ-А», «Сорбфил ПТСХ-АФ-В-УФ» [7, 235, 236].

Методами БХ и ТСХ анализировали извлечения, полученные из объектов исследования на 40%, 70%, 80% и 95% этиловом спирте, при соотношении сырья и экстрагента 1:10.

Для разделения сумм БАВ при проведении хроматографии на бумаге и в тонком слое сорбента использовались системы растворителей [7, 97, 122]:

1. Петролейный эфир - ацетон (3:1)
2. Петролейный эфир - этилацетат (1:3)
3. Этилацетат - уксусная кислота (8:2)
4. Бензол - уксусная кислота (5:2)
5. Хлороформ - этанол (9:1)
6. Хлороформ - этанол (8:2)
7. Бензол - этилацетат - ледяная уксусная кислота (50:50:1)
8. Хлороформ - этанол - вода (26:16:3)
9. Этилацетат - муравьиная кислота - вода (35:7,5:7,5)
10. Этилацетат - муравьиная кислота - вода (8:1:1)
11. Этилацетат - муравьиная кислота - вода (30:6:9)
12. Этилацетат - муравьиная кислота - вода (14:3:3),
13. Муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота - вода - метанол - ацетон - хлороформ (6:6:7,5:12,5:30:60),
14. Этилацетат - муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота - вода (100:11:11:26),
15. Этилацетат - муравьиная кислота - уксусная кислота - вода (100:11:11:13),
16. Хлороформ - ЛУК - метанол - вода (15:8:3:2),
17. Бутанол - уксусная кислота-вода (4:1:1),
18. Бутанол - уксусная кислота-вода (4:1:5),
19. Бутанол - уксусная кислота-вода (4:1:1),

20. Бутанол - уксусная кислота-вода (4:1:2),
21. Бутанол - этанол - вода (7:2:5),
22. Бутанол - этанол - 25% аммиак (7:2:5),
23. Хлороформ - метанол - вода (65:35:10),
24. Этилацетат - этанол - вода - аммиак (65:25:9:1)

При проведении круговой БХ хроматограмму готовили из хроматографической бумаги в виде диска диаметром 12 см. В диске вырезали полоску от края до центра, затем загибали ее так, чтобы конец полоски помещался на дне камеры с растворителем. Камерой служили сложенные вместе две чашки Петри одинакового диаметра, в одну из которых помещался растворитель, а между ними - хроматограмма. На линию старта (окружность на расстоянии 1 см от центра хроматограммы) микрошприцом наносили 20 мкл извлечения и по 5 мкл 0,05% растворов стандартных образцов веществ. Хроматограмму высушивали на воздухе, затем помещали в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру и хроматографировали круговым способом. Когда фронт растворителей доходил до края хроматограммы, ее вынимали из камеры и сушили на воздухе. Затем просматривали хроматограммы в УФ-свете при длине волны 365 нм. Далее проявляли пластинки 5% спиртовым раствором алюминия хлорида и наблюдали изменение окраски пятен.

При проведении ТСХ на линию старта пластинки микрошприцом наносили 20 мкл подготовленного извлечения и по 5 мкл 0,05% растворов стандартных образцов веществ. Пластинку высушивали на воздухе, затем помещали в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру и хроматографировали восходящим способом. Когда фронт растворителей проходил около 80-90% высоты пластинки, ее вынимали из камеры и сушили на воздухе. Затем просматривали хроматограммы в УФ-свете при длине волны 365 нм или 254 нм. После проявляли пластинки 5% спиртовым раствором алюминия хлорида и наблюдали изменение окраски пятен.

Для идентификации природных веществ на хроматограммах использовали СО веществ: кверцетин, рутин, нарингенин, нарингин, кемпферол, лютеолин-7-

гликозид, апигенин, лютеолин, физетин, байкалеин и гиперозид, кофейную кислоту, хлорогеновую кислоту, урсоловую кислоту, эскулетин (ООО «Сигмабиосинтез», НПО ВИЛАР, ООО «ВИЛАР-ИМПЕКС» (Россия).

Примечание:

1. Подготовка пластинок. Пластинки вырезали размером 10×10 см, наносили линию старта на расстоянии 1 см от края и перед использованием активировали в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 1 часа.

2. Приготовление системы растворителей для хроматографирования. Системы использовали свежеприготовленные. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей проводили не менее 1 часа.

3. Приготовление растворов стандартных образцов веществ. Растворы стандартных образцов веществ в концентрации 0,05% готовили путем растворения точной навески веществ в 95% этиловом спирте.

Установление моносахаридного состава выделенных комплексов полисахаридов из листьев боярышника кроваво-красного проводили методами БХ, бумага марки «С» и ТСХ на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А» [7].

Для разделения моносахаридов использовались системы растворителей [7, 97, 122]:

1. для хроматографии на бумаге:

этилацетат - уксусная кислота - муравьиная кислота-вода (18:3:1:4)

2. для хроматографии в тонком слое сорбента:

бутанол - ацетон - вода (4:5:1).

Для приготовления систем использовались ледяная уксусная кислота и вода очищенная. Вещества детектировали просмотром хроматограмм в видимом и УФ-свете после проявления хроматограмм анилинфталатным реактивом и нагревали в сушильном шкафу при температуре 100-105°С; моносахариды проявлялись в виде красновато-коричневых пятен [206].

Для идентификации моносахаридов использовали СО сахаров: глюкоза, галактоза, фруктоза, манноза, ксилоза, маннит, арабиноза, сахароза, рамноза (НПО ВИЛАР).

Метод хроматоденситометрии

Хроматограммы, полученные методом ТСХ, анализировали с использованием денситометра Сорбфил (ООО Имид, Россия). Метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ), хроматоденситометрии или видеоденситометрии - метод для качественной и количественной оценки хроматограмм. Принцип метода заключается во введении изображения хроматограммы в компьютер с помощью видеокамеры или цифровой камеры с последующим сравнением интенсивностей пятен стандартных и определяемых соединений. В комплект денситометра Сорбфил входят камера осветительная марки Сорбфил КС 4.00.000, видеокамера Sony DCR-CX190E и программное обеспечение в электронном варианте. Программа обработки хроматографических данных позволяет выполнять следующие функции: вводить изображения хроматограмм и сохранять их с высоким качеством и разрешением; выделять на хроматограмме рабочий участок, на котором будет производиться дальнейшая обработка изображения; производить автоматический или ручной поиск пятен; проводить обработку пятен, переводить их в форму хроматографических пиков, рассчитывать значения R_f , площади и высоту пиков; измерять содержание вещества в анализируемых пятнах (в относительных единицах); вводить значения концентраций для построения градуировочных зависимостей: линейной интерполяции; линейной аппроксимации более чем, через две точки; квадратичной интерполяции; автоматически вычислять содержание вещества в анализируемых пятнах по введенным калибровочным значениям; представлять результаты в виде печатных документов, т.е. первичных материалов [268].

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

Анализ флавоноидов в сборах и листьях боярышника кроваво-красного проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографической системе WatersBreeze (Waters, США) со спектрофотометри-

ческим детектором. Колонка с фазой NovaPak C18, 300×3,9 мм, 4 мкм (Waters, США). В качестве подвижной фазы использовали элюент состава вода (В): ацетонитрил (А). Анализ проводили в градиентном режиме в следующих условиях: элюирование - 5% ацетонитрил 5 мин, 30% - от 5 до 10 мин, 60% - от 10 до 30 мин, 100% - от 30 до 45 мин, 5% - от 45 до 60 мин. Скорость потока составляла 0,9 мл/мин. Детектирование проводили при длине волны 275 нм. Анализируемый образец в виде извлечения, полученного на 70% этиловом спирте, предварительно освобожденного от липофильных веществ, объемом 15 мкл вводили микрошприцем в аналитическую петлю объемом 5 мкл и записывали хроматограмму. Количественное определение индивидуальных компонентов в исследуемых образцах проводили по методу внешнего стандарта как наиболее оптимальному для хроматографического анализа многокомпонентных смесей [277].

Идентификацию выделенных соединений проводили методом ВЭЖХ-МС с использованием жидкостного хроматографа «Agilent 1200» с tandemным масс-спектрометрическим детектором «ионная ловушка» 6330. Условия хроматографирования: колонка Zorbax C18, 5 мкм, 2,1×150 мм. Элюирование проводили в градиентном режиме, в качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила и воды в соотношении (2:98, 5:95, 3:7, 4:6, 6:4, 7:3, 95:5, 98:2, 2:98). Скорость потока – 0,8 мл/мин, объем вводимой пробы 10 мкл, время элюирования 20 минут. Анализ проводился в режиме регистрации отрицательных ионов, по полному ионному току, по массовым зарядам характеристических и дочерних отрицательных ионов, режим UltraScan 90- 1000 m/z, AutoMS. Идентификацию веществ проводили по сравнению с библиотечными масс-спектрами.

Анализ молекулярно-массового распределения полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного проводили на жидкостном хроматографе Ultimate 3000 (Германия, «Dionex»). Условия хроматографирования: колонка TSKGMPW_{XL}, 300×78 мм, 13μm, подвижная фаза - вода, скорость потока 1 мл/мин. Детектирование рефрактометрическое, температура ячейки детектора 40°C.

Метод газовой хроматографии масс-спектрометрии

Исследование спиртовых извлечений, полученных с использованием 95% этилового спирта, проводили методом газовой хроматографии масс-спектрометрии (ГХ/МС). Приготовленные пробы анализировали с использованием газового хроматографа «Agilent» (США) модели 6890 N с масс-селективным детектором модели 5973 при следующих условиях: колонка - капиллярная HP-5M8 (30м×0.25 мм, толщина пленки фазы 0,25 мкм); температура инжектора - 280°C, интерфейса детектора - 280°C; начальная и конечная температура термостата колонки - 50° и 280°C соответственно; температура колонки изменялась со скоростью 10 град/мин; газ-носитель - гелий; объем вводимой пробы - 1 мкл.

Пробу вводили в режиме с делением потока 40:1; масс-селективный детектор работал в режиме электронного удара (70 эВ); определение веществ в пробе проводили в режиме регистрации по полному ионному току. Полученные масс-спектры веществ сравнивали с библиотечными масс-спектрами.

Компонентный состав эфирного масла листьев боярышника кроваво-красного исследовали методом хромато-масс-спектрометрии на приборе фирмы TermoFinnigan (хроматограф Finnigan 800, масс-спектрометр высокого разрешения MAT-95XPЭВМ «Delta») (микрокапиллярная колонка DB-5 длиной 30м, внутренний диаметр - 0.25 мм, привитая фаза содержащая 5 % диметилфенилсиликона и 95 % диметилсиликона). Условия анализа: газ-носитель - гелий; скорость газа-носителя 1 мл/мин; объем пробы - 0.1-0.5 мкл; программируемый нагрев хроматографической колонки (изотерма 50°C, 2 мин, подъем температуры до 180°C - скорость подъема 25°/мин., подъем температуры до 250°C - скорость подъема 5°/мин; температура инжектора -250°C). Компоненты эфирных масел идентифицировали в процессе хроматографирования по результатам сравнения масс-спектров химических веществ с данными библиотеки масс-спектров библиотеки масс-спектров NIST-02.

Липофильные вещества листьев боярышника кроваво-красного в гексановом и хлороформном извлечениях определяли на приборе фирмы «Agilent» (США) модели 6890 N с масс-селективным детектором модели 5973 (колонка - капиллярная HP-5M8 (30 м × 0,25 мм, толщина пленки фазы 0,25 мкм). Условия анализа: газ-носитель - гелий; скорость газа-носителя 1 мл/мин; объем пробы - 0,1 мкл; пробу вводили в режиме с делением потока 40:1; программируемый нагрев хроматографической колонки (изотерма 100°C, 2 мин, подъем температуры до 280°C - скорость подъема 35°C/мин., температура инжектора - 280°C). Полученные масс-спектры веществ сравнивали с библиотечными масс-спектрами.

Моносахариды листьев боярышника кроваво-красного идентифицировали хромато-масс-спектрометрическим методом (ГХ-МС) в виде соответствующих триметилсилильных производных моносахаридов после предварительного гидролиза 2М кислотой трифторуксусной [211]. Для получения триметилсилильных производных к остатку моносахаридов, полученному после кислотного гидролиза, добавляли 100 мкл безводного пиридина и 30 мкл N-триметилсилилимидазола, закрывали плотно крышкой и оставляли на 25 минут в сушильном шкафу (75°C), потом охлаждали и добавляли по 1 мл гексана, перемешивали и верхний слой отбирали на анализ.

Разделение триметилсилильных производных моносахаров проводили на газовом хроматографе Agilent 7890A (США) на колонке 1 MS 30 м, внутренний диаметр капилляра 0,25 мкм, скорость потока газа-носителя (He) 1 мл/мин, в градиенте температур: 70 град. - 2 минуты, далее 10 градусов в минуту (до 300 град.), температура инжектора 280 град., детектирование велось на масс-спектрометре Agilent 5975S (США) ионизация электронным ударом, сканирование m/z 33-600, температура ионного источника 120 град. Полученные масс-спектры сравнивали с библиотечными масс-спектрами.

Метод спектроскопии ядерного магнитного резонанса

Метод спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопия) использовался для установления структуры выделенных веществ. Спектры ЯМР ^1H регистрировали на приборах: импульсном ЯМР-спектрометре BrukerAscend 500 (Германия) с рабочей частотой 500 МГц, BrukerAvenice III (Германия) с рабочей частотой 500 МГц, BrukerAMX-300 (Германия) с рабочей частотой 300 МГц. Спектры ЯМР ^{13}C записаны на импульсном ЯМР-спектрометре BrukerAscend 500 (Германия) с рабочей частотой 125,5 МГц с подавлением по протонам. В ЯМР-спектрах химические сдвиги приводятся относительно остаточного сигнала растворителя: диметилсульфоксида ($\text{DMSO}-d_6$).

Метод спектрофотометрии

Спектрофотометрическое исследование проводили для измерения УФ-спектров выделенных соединений, для количественной оценки содержания кумаринов, фенолкарбоновых кислот, каротиноидов, флавоноидов, йода в объектах исследования и для оценки их антиоксидантной и кардиотонической активности. Исследование проводили на спектрофотометрах СФ-46 и Shimadzu UV-1800 в кюветах толщиной слоя 1 см [19, 200].

Рентгенофлуоресцентный метод

Аминокислотный, макро- и микроэлементный состав сборов и листьев боярышника кроваво-красного определяли рентгенофлуоресцентным методом на спектрометре «PacificScientific-6520», который предназначен для определения элементного и аминокислотного состава различных материалов [65, 155].

Пробы растительного материала до размера частиц менее 100 мкм и пресовались в таблетку-излучатель на подложке из борной кислоты. Навеска расти-

тельного объекта массой 1 г помещалась в спектрометр, где и проводили измерение.

Определение pH

pH жидких экстрактов из сбора «Ангиофит-НМК» определяли потенциометрическим методом с использованием pH-метра марки pH-150 МИ (Россия) со стеклянным и хлорсеребряными электродами согласно методике ГФ-ХІ издания.

Выделение индивидуальных веществ и их идентификация

Выделение индивидуальных веществ из листьев боярышника кроваво-красного проводили методом колоночной хроматографии с использованием в качестве сорбентов окиси алюминия, силикагеля Chemapol (L 40/100 мкм) и полиамида Woelm (Германия). Извлечение из листьев боярышника кроваво-красного получали на 70 % этиловом спирте (1:10). Навеску 500,0 г заливали 70 % этиловым спиртом, оставляли настаиваться на сутки, потом экстрагировали в течение 2 часов на кипящей водяной бане. Полученный экстракт фильтровали и упаривали на ротаторном испарителе до густой массы. К полученному густому экстракту добавили 10 мл хлороформа, смешали с 10 г силикагеля (оксид алюминия, полиамид) и вносили в приготовленную колонку (высота – 30 см, диаметр – 3 см), набитую силикагелем (оксид алюминия, полиамид). Через колонку с сорбентом пропускали последовательно различные растворители и их смеси (гексан, хлороформ, смесь хлороформа и этилового спирта (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1), спирт этиловый 95%, 80%, смесь бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды (4:1:1, 4:1:2, 4:1:3, 4:1:4, 4:1:5). Порции элюатов по 3 мл собирали и измеряли их УФ - спектры. Элюаты, имеющие одинаковые спектры, объединяли. После этого растворители упаривали при температуре 60°C до 1 мл и оставляли на сутки для кристаллизации веществ. Индивидуальные вещества очищали многократной перекристалли-

зацией из этилового или метилового спирта. Вещества растворяли при повышенной температуре (60°C) в спирте, раствор фильтровали. Затем раствор охлаждали, вещества выпадали в осадок. Полученные кристаллы отфильтровывали. Полученные вещества сушили. Идентификацию всех выделенных природных соединений осуществляли методом ТСХ путем сравнения хроматограмм со стандартными образцами веществ, изучением ИК-, ЯМР- и масс-спектров веществ, УФ-спектров до и после добавок комплексообразующих веществ (1% раствор алюминия хлорида в этиловом спирте), определения температуры плавления [41, 96, 108, 112].

Исследования УФ-спектров проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-1800, ИК-спектров - на приборе - спектрофотометре «Инфралюм» ФТ-02, температуру плавления определяли на приборе Кофлера.

Выделение водорастворимых полисахаридов (ВРПС) осуществляли путем двукратной экстракции водой очищенной, подкисленной 0.5% раствором хлористоводородной кислоты до $\text{pH}=1-2$ (нагревание 1 час; отстаивание 24 часа; далее нагревание 1 час) и последующим осаждением полисахаридов 95 % этиловым спиртом, с последующей фильтрацией, растворением осадка в воде и диализом через полупроницаемую мембрану с пропускающей способностью MWCO (Molecular weight cut-off) 3-6 кДа в течение 48 ч в 50-кратном объеме очищенной воды при комнатной температуре и перемешивании на магнитной мешалке, меняя воду через 24 ч. После диализа раствор замораживали и лиофильно высушивали.

Для получения фракции пектиновых веществ (ПВ) использовали шрот сырья, оставшийся после выделения ВРПС. Шрот сырья экстрагировали смесью растворов щавелевой кислоты и оксалата аммония 0.5% (1:1) в соотношении 1:20 при температуре $80-85^{\circ}\text{C}$ в течение 2,5 часов. Повторное извлечение проводили дважды в соотношении 1:10. Экстракты концентрировали, диализировали и ПВ осаждали 95% этиловым спиртом (1:5). Выпавшие осадки ПВ отфильтровывали, промывали спиртом и высушивали [26].

Кислотный гидролиз полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного проводили следующим образом: 10 мг фракции полисахаридов помещали в ампулу объемом 10 мл, добавляли 2 мл 4 М трифторуксусной кислоты. Ампулу за-

паивали и выдерживали 5 часов в сушильном шкафу при температуре 100°C. Далее содержимое ампулы переносили в колбу и упаривали на роторном испарителе, добавляя для освобождения от остатков трифторуксусной кислоты по 0,5 мл метилового спирта трижды. Сухой остаток растворяли в 95% этиловом спирте, фильтровали и переносили в колбу и высушивали при температуре 50°C до постоянной массы [211].

2.2.3.2. Методы количественного анализа биологически активных веществ

Количественное определение биологически активных веществ, содержащихся в сборах и листьях боярышника кроваво-красного, проводили с использованием различных методов.

Количественное содержание *флавоноидов* определяли с использованием нескольких методик.

Методика 1 - спектрофотометрическим методом по Беликову В.В. с соав.[19]. Пересчет проводили на рутин.

Методика 2 - спектрофотометрическое определение суммы флавоноидов в пересчете на кверцетин [191].

Методика 3 - спектрофотометрическое определение суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид [219].

Методика 4 – спектрофотометрическое определение процианидинов в пересчете на цианидин [122,342].

Фенолкарбоновые кислоты определяли с использованием хромато-спектрофотометрическим методом в пересчете на хлорогеновую кислоту [260].

Содержание *кумаринов* определяли согласно спектрофотометрической методике в пересчете на кумарин [234].

Количественное определение *аскорбиновой кислоты* проводили титриметрическим методом по ГФ-Х1 (ч.2, ст.№ 38 «Плоды шиповника») [55].

Дубильные вещества определяли титриметрическим методом, описанным в ГФ-ХІ (ч.1, с.286 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье»), в пересчете на танин [55].

Содержание *тритерпеновых сапонинов* устанавливали фотоэлектроколориметрическим методом в пересчете на олеаноловую кислоту [75].

Количественное определение *полисахаридов* проводили гравиметрическим методом по ГФ-ХІ (ч.2, ст.20 «Листья подорожника большого») методом [55].

Количественное определение *каротиноидов* проводили спектрофотометрическим методом в пересчете на β -каротин [36].

Определение содержания свободных *органических кислот* осуществляли титриметрическим методом по ГФ-ХІ (ч.2, с.295 «Плоды шиповника») [55].

Количественное определение *эфирного масла* проводили методом гидроdistилляции по ГФ-ХІ (ч.1, статья «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье» метод 1).

Количественное определение *йода* проводили с помощью спектрофотометрического аналитического метода, основанного на катализируемой йодом окислительно-восстановительной реакции между роданид- и нитрит-ионом [73, 80, 225, 245].

Выход *фракций полисахаридов* определяли гравиметрическим способом после высушивания осадков [206].

Общее содержание *уроновых кислот* во фракциях полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного определяли карбазол-серным методом [278].

Количественное определение *белковых примесей* во фракциях полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного определяли методом Лоури [55].

2.2.4. Методы исследования биологической активности

Оценка биологической активности сборов и листьев боярышника кроваво-красного проводилась совместно с Лабораторией биоорганической химии УНЦ РАН (к.б.н., доцент Н.Ж. Басченко), кафедрой фармакологии №2 (зав. кафедрой, д.мед.н., профессор Л.А. Валеева), кафедрой микробиологии (зав.кафедрой, д.мед.н., профессор Габидуллин З.Г.), ЦНИЛ ГБОУ ВПО Башкирского государственного медицинского университета Минздрава России (зав. ЦНИЛ, д.мед.н., профессор Р.Р. Фархутдинов).

Исследование острой токсичности

Острую токсичность объектов исследования изучали на 72 белых беспородных мышах обоего пола массой 18-22 г при однократном пероральном способе введения 10% свежеприготовленного настоя в дозах: 5000, 7500, 10000 мг/ кг. Каждую дозу исследовали на 6 животных.

О степени токсичности водных извлечений объектов исследований судили по изменению состояния животных (внешний вид, поведенческая реакция, активность, частота дыхания), наблюдение за которыми продолжалось в течение 14 дней. При работе с животными соблюдались Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных (1985). Параметры острой токсичности вычислялись по методу Литчфильда и Уилкоксона [18].

Исследование антигипоксической активности

Антигипоксическая активность объектов исследования изучалась методом нормобарической гипоксии с гиперкапнией на 40 молодых крысах одинакового веса, средняя масса которых составляла 50 г (разброс не более 2 г на группу).

Сборы вводили внутривенно крысам в виде 10 % свежеприготовленного настоя с расчетом 1,5 мл/кг и жидких экстрактов сборов в пересчете на сырье 0,3 г/кг, за 1 час до начала эксперимента с учетом пика его действия однократно и после 14 дневного профилактического приема. Животных помещали по одному в герметически закрываемые банки объемом 500 мл. Наблюдение завершали при явных признаках гипоксии (удушье), отмечали время выживания и количество выживших и погибших животных в процентах [255].

Исследование антикоагулянтной активности

Антикоагулянтную активность водных извлечений объектов исследований определяли по протромбиновому времени, которое является наиболее чувствительным тестом для оценки образования тромбина [39]. Использовался набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) (ООО фирма «Технология-Стандарт», г. Барнаул). Для исследования использовали бедную тромбоцитами плазму, которая не должна иметь сгустки, гемолиз, избыток натрия цитрата. В качестве препарата сравнения использовали гепарин в дозе 1 ЕД/мл.

Исследование антиагрегантной активности

Антиагрегантную активность водных извлечений (настоев) объектов исследований определяли по модифицированному методу Борна [282, 283]. Использовался анализатор тромбоцитов АТ-02, подключённый к компьютеру и оснащённый оригинальной программой производителя АТ-02.EXE для регистрации результатов. Агрегацию тромбоцитов проводили под влиянием основных индукторов (аденозиндифосфата (АДФ), коллагена, адреналина) [15, 346, 347]. В качестве препарата сравнения использовали ацетилсалициловую кислоту.

Исследование антиоксидантной активности

Антиоксидантную активность изучали с использованием нескольких методик.

По методике 1 об антиоксидантной активности объектов исследования судили по их способности ингибировать аутоокисление адреналина *in vitro* при 347 нм и тем самым предотвращать образование активных форм кислорода [200].

Для определения антиоксидантной активности методикой 2 использовался метод хемилюминесценции [182]. Настои готовили по методике ГФ XI издания «Настои и отвары».

Водные извлечения (от 0,01 до 0,5 мл) вносили в различные модельные системы, в которых генерировалось образование активных форм кислорода (АФК) и протекали реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ), как наиболее распространенные процессы свободно-радикального окисления.

Согласно методике 3 антиоксидантную активность объектов исследования определяли экспресс-методом на культуре клеток и судили по их влиянию на простейших - инфузорий вида *Paramecium Caudatum*. В качестве ядов при изучении мембраностабилизирующей активности использовали этиловый спирт различной концентрации, а антиоксидантной - раствор перекиси водорода [212].

Исследование кардиопротективной активности

Влияние сбора «Кардиофит-ИБС» и листьев боярышника кроваво-красного на биоэлектрическую проводимость сердца изучалось на серии опытов на крысах-самцах линии Вистар после профилактического приема (14 дней) и последующем экспериментальном адреналин-гипоксическом повреждении миокарда [138].

Электрокардиограмму снимали у животных в первый и четырнадцатый день эксперимента. Объекты исследования вводили перорально в виде настоя (1:10) ежедневно в дозе 0,3 г/кг от массы тела животного. Анализ электрокардиограмм проводили во II стандартном отведении. Влияние препарата определяли по изме-

нениям положения сегментов QT, TP, QRS и вольтажа зубцов. При обработке полученных данных обращали внимание на изменение частоты сердечных сокращений, продолжительность интервалов и вольтаж зубцов, а также на изменение систолического показателя. Достоверность различий между выборками определялась по непараметрическому U-критерию Манна - Уитни [42].

Исследование антиаритмической активности

Противоаритмическую активность листьев боярышника кроваво-красного изучали на экспериментальных моделях аритмий, вызванных химическими веществами аконитином и хлоридом кальция, в соответствии с методическими рекомендациями по экспериментальному (фармакологическому) изучению препаратов, предлагаемых для клинических испытаний в качестве средств для профилактики и лечения нарушений ритма сердца [88]. Опыты проводили на беспородных крысах массой 160-200 г. Исследуемый настой листьев боярышника вводили в желудок крысам по 0,6 мл на 200 г веса животного через зонд. В качестве препарата сравнения использовали - настойку плодов боярышника (ОАО «Синтез»). Животных данной группы поили настойкой согласно инструкции по применению в пересчете на вес животного: по 0,5 мл из рабочего раствора (0,5 мл настойки в 10 мл воды). Контрольную группу животных поили водой.

Настойкой плодов и настоем листьев боярышника животных поили курсом в течение 14 дней, а также за 60 мин до воспроизведения аритмии. Критерием положительного эффекта было предотвращение аритмии, или изменения в ее продолжительности и выраженности, а также предотвращение или уменьшение количества случаев гибели от фибрилляции желудочков.

Электрокардиограмму (ЭКГ) регистрировали на протяжении всего опыта во II стандартном отведении с помощью электрокардиографа «Heart Mirror-1» (фирма «Innomed Medical Inc», Будапешт).

При работе с животными соблюдались Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных (1985) [138].

Исследование кардиотонической активности

Кардиотоническую активность лекарственного растительного сырья при составлении сбора «Кардиофит-ИБС» определяли по спектрофотометрической методике Чекмана И.С. [256].

Для получения комплексов химических соединений из настоев лекарственного растительного сырья (ЛРС) с ионами кальция использовались следующие составы в следующих соотношениях (таблица 2.2.4.1).

Таблица 2.2.4.1 - Составы реагентов

Колба	Объем настоя	Объем раствора CaCl_2 C_0 (CaCl_2) =0,1 моль/л	Объем раствора KCl C_0 (KCl)= 1 моль/л	Полученные конц-ции CaCl_2
1	2,0	0	23,0	0
2	0	2,5	22,5	$1 \cdot 10^{-2}$
3	0	5,0	20	$2 \cdot 10^{-2}$
4	2,0	2,5	20,5	$1 \cdot 10^{-2}$
5	2,0	5,0	18,0	$2 \cdot 10^{-2}$

Колбы с растворами закрывали пробками, тщательно перемешивали и оставляли стоять 5 минут для протекания процесса комплексообразования. Затем снимали на спектрофотометре электронные спектры поглощения растворов в колбах 1-5 на максимуме поглощения соответствующего вида ЛРС, где величины оптической плотности наиболее стабильны. Отклонение величин оптической плотности растворов реагентов от аддитивной свидетельствовали об образовании комплекса. Средние величины оптической плотности образующихся комплексов с катионами кальция использовали для определения констант устойчивости. Расчет

констант устойчивости проводили по методу Накагуры с использованием уравнения:

$$K_{уст.} = \frac{C_4 \cdot (D_1 - D_5) + C_5 (D_4 - D_1)}{C_4 \cdot C_5 \cdot (D_5 - D_4)}, \text{ где} \quad (1)$$

C_4 - концентрация хлорида кальция в колбе 4;

C_5 - концентрация хлорида кальция в колбе 5;

D_1 - величина оптической плотности раствора в колбе 1;

D_4 - величина оптической плотности раствора в колбе 4;

D_5 - величина оптической плотности раствора в колбе 5.

Величина константы устойчивости образующихся комплексов химических соединений с ионами кальция, согласно взятой методике, при превышении 100 г/моль свидетельствует о наличии кардиотонической активности.

2.2.5. Методы технологических исследований

Настои и отвары из объектов исследования получали по методике ГФ XI, ст. «Настои и отвары» [56].

При расчете количества экстрагента (воды очищенной) вычисляли K_n - коэффициент водопоглощения объектов исследования:

$$K_n = m / m_o, \text{ где:} \quad (2)$$

m - масса сырья после набухания, г;

m_o - навеска сырья, г [9].

Жидкие экстракты 1:1 из сборов получали методами перколяции и модификации реперколяции, используя в качестве экстрагента 40% и 70% этиловый спирт [250, 258].

Густой экстракт из листьев боярышника кроваво-красного получали методом дробной мацерации с использованием в качестве экстрагентов воды очищенной, 40% и 80% этилового спирта [55].

Определение содержания тяжелых металлов, плотности, влажности, pH, сухого остатка для экстрактов проводили по методикам ГФ XI и ОФС «Экстракты» [55, 56].

Определение биодоступности жидкого экстракта определяли *in vitro* методом диффузии через полупроницаемую мембрану по высвобождаемости действующих веществ [17].

2.2.6. Методы статистической обработки результатов исследований

Статистическую обработку полученных результатов проводили стандартными методами вариационной статистики с применением программ «Excel 7.0», «Statistica 5.0», «Statistica 6.0». Для отрицания «нулевой» гипотезы использовали U-тест Манна-Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми при $P < 0,05$ [42]. Достоверность различий между выборками определялась по параметрическому t-критерию Стьюдента и непараметрическому U-критерию Манна - Уитни. Коэффициент корреляции рассчитывали методом наименьших квадратов [56].

ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА МЕТОДОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ ПО СОЗДАНИЮ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

3.1. Разработка методологической схемы и теоретическое обоснование составов сборов

Одной из основных задач наших исследований явилась разработка составов сборов для профилактики и комплексного лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Так как, согласно данным ВОЗ, основными причинами смертности населения земного шара являются ишемическая болезнь (инфаркты) и цереброваскулярная болезнь (инсульты), то было решено разработать сборы именно для этих нозологий. Фитотерапия с использованием поликомпонентных сборов позволяет мобилизовать каскады нейрогуморальной, иммунной, антимикробной, антиоксидантной защиты, при этом субстратные механизмы действия не исключаются и дополняют информационные, что обеспечивает разносторонний и высокий терапевтический эффект [16]. При создании лекарственных растительных средств на основе природных антиоксидантов актуальной проблемой является разработка методологических подходов к их созданию. Данные подходы должны базироваться на принципах современной фитотерапии, основанных на положениях доказательной медицины [116, 146]. При составлении прописей сборов были изучены основные методологические подходы по разработке лекарственных сборов с предполагаемым спектром фармакологической активности таких отечественных ученых, как В.Г. Пашинский, С.Я. Соколов, В.Ф. Корсун, В.А. Куркин, Е.Е. Лесиовская, Т.И. Никитина [102, 116, 127, 144, 154, 207].

На основании проведенного анализа исследований в данной области нами разработан методологический подход по созданию лекарственных растительных средств на основе природных антиоксидантов, который можно представить в виде схемы (рисунок 3.1.1.). Схема состоит из нескольких направлений исследований. Каждое из направлений включает несколько разделов. В итоге каждого ис-

следования должен быть получен промежуточный результат, который является основой следующего исследования.

Первое направление – выбор группы биологически активных соединений, которое реализуется в несколько этапов: анализ данных литературы по исследованию фармацевтического рынка использования антиоксидантов, выявление направлений современной фитотерапии этиопатогенетической фитотерапии.

Второе направление - выбор потенциальных растительных объектов исследования с учетом исследованности их химического состава, сырьевых возможностей на основе литературно-информационного поиска.

Третье направление – используемые методы исследования: фармакологический скрининг антиоксидантной активности, исследование антиоксидантной активности, биологических свойств и фитохимические методы анализа. Результатом данных исследований может явиться новая рецептура сбора или новый вид ЛРС.

Четвертое направление – разработка НД и апробация, состоящие из таких этапов, разработка НД на сборы или ЛРС, на лекарственные растительные субстанции или препараты и апробация их в виде выпуска опытной промышленной партии, методик анализа в контрольно-аналитических лабораториях.

В результате разработанной методологической схемы по оптимизации создания лекарственных средств, обладающих антиоксидантной активностью, предложены научно-методические предпосылки для последующего изучения новых видов лекарственного растительного сырья или сборов.



Рисунок 3.1.1. Методологическая схема для разработки новых лекарственных растительных средств на основе природных антиоксидантов

При разработке составов сборов учитывалось учение профессора А.Н. Кудрина, которое заключается в одновременном применении препаратов, действие которых направлено на устранение или ослабление причины заболевания, уменьшение патогенетических изменений и усиление компенсаторно-приспособительных механизмов организма [144, 145].

Согласно проведенным маркетинговым исследованиям, выделены группы биологически активных веществ, влияющие на основные звенья этиопатогенеза сердечно-сосудистых заболеваний и виды официального ЛРС, обладающие фармакологическими свойствами при данной патологии (таблица 3.1.1.).

Таблица 3.1.1 - Направления этиопатогенетической фитотерапии
сердечно-сосудистых заболеваний

Группы биологически активных веществ и лекарственное растительное сырье	Направления фитотерапии	Фармакологические свойства	Источник литературы
- флавоноиды (плоды боярышника, трава сушеницы топяной, цветки ромашки); - полисахариды (листья подорожника большого, корни одуванчика, семена льна); - сапонины (корневища с корнями диоскореи, трава якорцев стелющихся); - органические кислоты (плоды шиповника, цветки арники)	Атеросклеротическое поражение сосудов	Антиатеросклеротический	2, 89, 101, 152, 265
- полисахариды (листья подорожника большого, корневища и корни девясила, корни одуванчика); - иридоиды (трава золототысячника); - органические кислоты (плоды рябины); - сапонины (корень солодки); - эфирные масла (цветки ромашки аптечной, трава мелиссы лекарственной, плоды аниса)	Гиперхолестеринемия Гиперлипидемия	Гипохолестеринемический Гиполипидемический	16, 152, 174
- флавоноиды (листья земляники лесной, листья мяты перечной,		Желчегонный	152, 174

цветки ромашки аптечной); - органические кислоты (плоды шиповника, столбики с рыльцами кукурузы)			
- флавоноиды (плоды боярышника, листья гинкго); - кумарины (трава донника, трава полыни обыкновенной, семена конского каштана); - алкалоиды (трава барвинка малого)	Нарушения в системе Гемостаза	Антикоагулянтный Антиагрегантный	29, 98, 101, 152, 174, 207
- эфирные масла (листья мяты перечной, цветки ромашки аптечной, трава Melissa лекарственной, корневища и корни девясила, плоды аниса, плоды тмина, трава тысячелистника); - флавоноиды (листья земляники лесной); - алкалоиды (трава барвинка малого)	Спазм венечных Артерий	Спазмолитический	16, 29, 116, 172, 174
- флавоноиды (плоды боярышника, трава сушеницы топяной, трава полыни обыкновенной, трава пустырника, плоды аронии, листья земляники лесной, корень солодки, корневища с корнями девясила, корни шлемника); - алкалоиды (трава барвинка малого)	Артериальная гипертензия	Гипотензивный	16, 116, 123, 152, 171, 172, 174
- фенольные соединения (плоды боярышника, плоды укропа, столбики с рыльцами кукурузы, трава тысячелистника, трава золототы-		Диуретический	115, 116, 171, 172, 174

сячника, плоды рябины, плоды шиповника, корни одуванчика, плоды тмина)			
- флавоноиды (трава сушеницы топяной, корни одуванчика, плоды рябины, листья земляники лесной, корневища и корни девясила, цветки лабазника); - кумарины (трава донника); - алкалоиды (трава барвинка малого); - фенолкарбоновые кислоты (трава мелиссы лекарственной, листья подорожника большого)	Гипоксические синдромы, лежащие в основе нарушения деятельности антиоксидантных ферментов	Антигипоксический	2, 98, 116, 128, 142, 152, 170, 172, 174, 205, 214, 259
- флавоноиды (плоды боярышника, листья подорожника большого, трава пустырника, корень солодки, цветки ромашки аптечной, трава тысячелистника); - аскорбиновая кислота (плоды рябины, листья земляники лесной, плоды шиповника); - кумарины (трава донника, трава полыни обыкновенной); - фенилпропаноиды (трава мелиссы лекарственной) - токоферолы (плоды тмина); - иридоиды (трава золототысячника, корни одуванчика)		Антиоксидантный	130, 170, 171, 172, 173, 174
- сапонины (плоды боярышника); - кумарины (трава донника); - фенилпропаноиды (трава мелиссы лекарственной)	Нарушение трофики миокарда	Антиангинальный	128, 152
- сапонины (плоды боярышника);		Кардиопротектив-	16, 152, 170,

- кумарины (трава донника); - фенилпропаноиды (трава мелиссы лекарственной); - алкалоиды (трава барвинка малого); - флавоноиды (листья земляники лесной, корень солодки, корневища и корни девясила, цветки лабазника)		ный	171, 172, 174, 205, 214, 259, 273, 306, 319
- флавоноиды (плоды боярышника, трава сушеницы топяной, листья гинкго, плоды аронии, листья земляники лесной, соплодия хмеля, листья мяты перечной); - аскорбиновая кислота (плоды шиповника, плоды рябины)		Ангиопротекторный	16, 116, 170, 265, 277, 293, 313
- алкалоиды (трава барвинка малого); - флавоноиды (листья гинкго двуплодного, трава мелиссы лекарственной); - кумарины (трава донника)	Нарушение мозгового кровообращения	Улучшающий мозговое кровообращение (нейропротекторный)	10, 22, 29, 101, 116, 130, 172, 265, 272, 277
- флавоноиды (плоды боярышника); - алкалоиды (трава аконита белостолбчатого)	Тахикардия	Антиаритмический	265, 270
- иридоиды (трава пустырника, соплодия хмеля); - эфирные масла и фенилпропаноиды (листья мяты перечной, трава мелиссы лекарственной, цветки липы); - алкалоиды (трава барвинка малого);	Развитие системных функциональных и эмоционально-волевых расстройств	Седативный Анксиолитический	97, 101, 116, 123, 152, 172

- кумарины (трава донника)			
- фенилпропаноиды (трава мелис- сы лекарственной); - антраценпроизводные (трава зверобоя); - флавоноиды (корни одуванчика, листья земляники лесной, корень солодки, корневища и корни де- вясила)		Антистрессорный Антидепрессивный	114, 116, 142, 152, 170, 171, 172

На основании данных информационно-литературного поиска нами были выбраны 25 видов ЛРС, обладающих различными видами фармакологической активности, из которых планировалось выбрать компоненты для сборов (таблица 3.1.2.) [89, 101, 118, 123, 128, 144, 148, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174].

Таблица 3.1.2 - Основные фармакологические эффекты лекарственного растительного сырья

№	Фармакологические эффекты Наименование ЛРС	Гипотензивный	Улучшение коронарного и мозгового Кровообращения	Спазмолитический	Антиатеросклеротический	Антикоагулянтный, антиагрегантный	Гипохолестеринемический	Ангиопротекторный	Кардиотонический, кардиопротектив- ный	Седативный	Диуретический	Антигипоксический	Антиангинальный	Антиоксидантный	Антистрессорный, анксиолитический	Антиаритмический
1.	Листья мяты перечной			+	+			+	+	+		+				
2.	Плоды боярышника	+	+		+		+	+	+	+	+		+	+		+
3.	Листья подорожника большого	+			+		+					+		+	+	
4.	Трава полыни обыкновенной	+				+								+		
5.	Трава сушеницы топяной	+			+			+				+				
6.	Трава пустырника	+								+				+	+	+
7.	Плоды рябины						+	+				+		+		
8.	Корни одуванчика				+		+					+		+	+	

9.	Трава донника					+				+		+	+	+		
10.	Плоды аронии черноплодной	+					+	+								
11.	Цветки ромашки аптечной			+	+		+			+		+		+	+	
12.	Трава мелиссы лекарственной			+			+		+	+		+	+	+	+	
13.	Соплодия хмеля									+		+			+	
14.	Трава барвинка малого	+	+						+	+		+				
15.	Плоды тмина		+	+			+				+			+		
16.	Столбики с рыльцами кукурузы						+				+					
17.	Листья земляники лесной	+					+	+	+					+	+	
18.	Корень солодки	+					+		+		+			+	+	
19.	Трава тысячелистника	+									+			+	+	
20.	Трава золототысячника										+			+		
21.	Корневища и корни девясила	+		+			+		+						+	
22.	Плоды шиповника				+	+	+	+	+			+		+	+	
23.	Плоды аниса	+		+							+					
24.	Семена льна				+		+									
25.	Цветки липы					+							+	+		

В состав разрабатываемого сбора при нарушении мозгового кровообращения необходимо было ввести виды ЛРС, влияющие на отдельные звенья этиопатогенеза при НМК: гипоксические синдромы, связанные с угнетением функционирования митохондриального аппарата дыхательной цепи; развитие эндотелиальной дисфункции; нарушение трофики мозговой ткани; развитие системных функциональных и эмоционально-волевых расстройств в организме; изменения внутричерепных объемов за счет внутричерепной гипертензии и отека мозга; синдром полиорганной недостаточности; патохимические нарушения [82, 227].

Учитывая данные патологические процессы, мы выбирали ЛРС со следующими видами фармакологической активности: антиатеросклеротической, гипохол-

лестеринемической, антиоксидантной, антикоагулянтной, улучшающей мозговое кровообращение, ангиопротекторной, антиагрегантной, гипотензивной, спазмолитической, седативной, антигипоксической, диуретической и др. (таблица 3.1.1 и 3.1.2).

Разрабатывая состав сбора при ИБС необходимо было ввести виды ЛРС, влияющие на отдельные звенья этиопатогенеза ИБС: атеросклеротическое поражение сосудов, нарушения в системе гемостаза, спазм венечных артерий, артериальную гипертензию, гиперхолестеринемию, гипоксические синдромы, лежащие в основе нарушения деятельности антиоксидантных ферментов; нарушение трофики миокарда; тахикардию; развитие системных функциональных и эмоционально-волевых расстройств; синдром полиорганной недостаточности [8].

Нами выбраны виды ЛРС со следующими видами фармакологической активности: антиангинальной, кардиотонической, антиатеросклеротической, гипотензивной, седативной, спазмолитической, антигипоксической, антиоксидантной, улучшающей коронарное кровообращение, антикоагулянтной, диуретической и др. (таблица 3.1.1 и 3.1.2)

При составлении сборов необходимо было учитывать, что организм - это единое целое, и нарушение любого из его звеньев приводит к заболеванию всего организма [144]. В сборы необходимо было ввести компоненты, дублирующие основные виды специфической активности, что предполагает усиление суммарного эффекта и обеспечение поливалентности лечебного действия при одновременном снижении побочного эффекта за счет усложнения природного комплекса биологически активных веществ [57,116].

На основании проведенных маркетинговых исследований для проведения фармакологического скрининга и составления сбора при НМК было отобрано 18 видов ЛРС, для составления сбора при ИБС - 22 вида ЛРС.

3.2. Экспериментальное обоснование составов сборов

Для выбора оптимального состава сбора при НМК нами был проведен скрининг по определению антиоксидантной активности выбранных в процессе информационно-литературного поиска 18 видов лекарственного растительного сырья и 131 различных сочетаний на их основе с использованием спектрофотометрической методики (*методика 1*), основанной на аутоокислении адреналина (глава 2, п.2.2.4.). Рутин и аскорбиновая кислота были взяты в качестве препаратов сравнения при определении объективности используемой методики. Полученные результаты исследования представлены в таблице 3.2.1.

Таблица 3.2.1 - Определение антиоксидантной активности индивидуальных растений и их композиций

№ п/п	Индивидуальные виды ЛРС и их композиции	АОА , %	№ п/п	Индивидуальные виды ЛРС и их композиции	АОА , %	№ п/п	Индивидуальные виды ЛРС и их композиции	АОА , %
1.	Пл. боярышника	32,1±0,8	51 .	С. Льна Пл. тмина Цв. Липы	15,1±0,2	101.	3.	18,1±0,7
2.	Цв. Ромашки	11,2±0,3	52 .	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной	23,1±1,1	102.	К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. мелиссы лекарст. Ш. хмеля С. Льна	27,1±0,9
3.	Л. мяты перечной	27,0±0,9	53 .	Цв. Ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш.	29,1±0,8	103.	К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. мелиссы обыкновен. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина	23,4±0,9
4.	Тр. сушеницы топяной	13,7±0,1	54 .	Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника	38,2±1,6	104.	Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. мелиссы лекарст. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина Цв. Липы	29,1±1,2
5.	Л. подорожника большого	26,1±0,9	55 .	Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш.	30,2±1,1		Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной	51,1±2,1

				Пл. шиповника Пл. рябины			Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен.	
6.	Пл. рябины	62,2± 1,9	56 .	Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен.	50,1± 2,1		Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого	21,3 ±0,9
7.	Тр. полыни обыкновенной	25,4± 0,9	57 .	Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого	32,4± 1,3	107.	Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки	27,4 ±1,2
8.	Тр. барвинка малого	46,4± 1,6	58 .	Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки	49,1± 2,2	108.	Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарст.	31,1 ±1,3
9.	К. солодки	17,1± 0,6	59 .	Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарст.	20,2± 1,0	109.	Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарств.	30,5 ±1,1
10.	Тр. донника	56,0± 2,0	60 .	Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст.	27,1± 1,2	110.	Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен.	58,1 ±1,5
11.	К. одуванчика	49,1± 1,8	61 .	К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен.	43,1± 2,1	111.	Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст.	25,2 ±1,1
12.	Пл. аниса	38,1± 0,9	62 .	К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст.	19,4± 0,8	112.	Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля	39,2 ±2,1
13.	Тр. Melissa лекарственной	17,2± 0,4	63 .	Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен.	14,6± 1,0	113.	Тр. барвинка малого К. солодки	54,3 ±2,1

				Тр. мелиссы лекарст. Ш. хмеля			К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. мелиссы лекарст. Ш. хмеля С. льна	
14.	С. Хмеля	43,0± 1,3	64 .	Пл. аниса обыкновен. Тр. мелиссы лекарст. Ш. хмеля С. льна	22,2± 1,1	114.	К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. мелиссы лекарст. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина	34,1 ±1,2
15.	С. Льна	25,1± 0,9	65	Тр. мелиссы лекарст. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина	10,4± 0,5	115.	К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. мелиссы лекарст. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина Цв. Липы	42,5 ±2,2
16.	Пл. тмина	33,4± 1,1	66 .	Ш. хмеля С. льна Пл. тмина Цв. Липы	20,1± 1,1	116.	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого	24,4 ±0,4
17.	Цв. Липы	41,4± 1,2	67 .	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш.	32,2± 1,4	117.	Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки	25,1 ±1,2
18.	Плоды шиповника	49,1± 1,7	68 .	Цв. Ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника	28,1± 0,9	118.	Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарст.	29,1 ±1,1
19.	Пл. боярышника Цв. Ромашки	44,1± 1,3	69 .	Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины	35,1± 1,6	119.	Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарств.	25,2 ±1,2
20.	Цв. Ромашки Л. мяты перечной	16,1± 0,7	70 .	Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш.	43,2± 1,2	120.	Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен.	27,2 ±1,3

				Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной.			Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенной.	
21.	Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной	19,2± 0,9	71 .	Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого	48,1± 2,3	121.	Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенной. Тр. Melissa лекарственного.	23,3 ±0,5
22.	Тр. сушеницы топяной Л. подорожника большого	6,1±0 ,3	72 .	Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки	40,3± 2,1	122.	Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенной. Тр. Melissa лекарственного. Ш. хмеля	34,3 ±13
23.	Л. подорожника большого Пл. шиповника	70,1± 2,3	73 .	Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Л. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарственного.	33,1± 1,0	123.	Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса Тр. Melissa лекарственного. Ш. хмеля С. Льна	21,1 ±0,5
24.	Пл. шиповника Пл. рябины	65,1± 1,9	74 .	Тр. полыни обыкновенной. Л. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного.	48,2± 0,9	124.	Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенной. Тр. Melissa лекарственного. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина	45,1 ±2,2
25.	Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной	56,3± 1,6	75 .	Л. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенной.	34,1± 0,9	125.	К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенной. Тр. Melissa лекарственного. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина Цв. Липы	37,3 ±1,2
26.	Тр. полыни обыкновенной Тр. барвинка малого	64,2± 2,2	76 .	К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенной. Тр. Melissa лекарственного.	54,1± 1,2	126.	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки	70,1 ±3,2
27.	Тр. барвинка малого К. солодки	54,1± 2,2	77	К. одуванчика Тр. донника лекарственного.	42,2± 1,3	127.	Цв. ромашки Л. мяты перечной	23,1 ±1,5

				Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля			Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарст.	
28.	К. солодки Тр. донника лекарст.	67,1± 2,8	78 .	Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля С. Льна	8,1±0 ,2	128.	Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст.	29,1 ±1,4
29	К. одуванчика Тр. донника лекарст.	15,1± 0,6	79 .	Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина	9,3±0 ,2	129.	Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен.	32,5 ±1,2
30.	Тр. донника лекарств. Пл. аниса обыкновен.	14,1± 0,5	80 .	Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина Цв. Липы	13,1± 0,5	130.	Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст.	24,4 ±0,9
31.	Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст.	9,3±0 ,3	81 .	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника	26,3± 0,9	131.	Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля	21,2 ±0,8
32.	Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля	14,0± 0,6	82	Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен.	19,1± 0,5	132.	Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля С. Льна	36,1 ±1,3
33.	Ш. хмеля С. Льна	21,1± 0,7	83 .	Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш.	5,1±0 ,1	133.	Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика	29,1 ±1,3

				Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого			Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенного. Тр. мелиссы лекарственной. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина	
34.	С. Льна Пл. тмина	10,2± 0,4	84 .	Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки	2,3±0 ,1	134.	Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенного. Тр. мелиссы лекарственной. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина Цв. Липы	40,1 ±1,2
35.	Пл. тмина Цв. Липы	11.1± 0,4	85 .	Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Л. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарственного.	24,3± 0,9	135.	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарственного.	77,1 ±3,3
36.	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной	21,3± 0,9	86 .	Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного.	24,4± 0,8	136.	Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного.	23,1 ±1,3
37.	Цв. Ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы то- пяной	27,1± 1,2	87 .	Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенного.	29,1± 0,9	137.	Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенного.	31,3 ±1,2
38.	Л. мяты перечной Тр. сушеницы то- пяной Л. подорожника больш.	15,3± 0,3	88 .	Л. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенного. Тр. мелиссы лекарственной.	44,1± 1,7	138.	Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенного. Тр. мелиссы лекарственной.	22,2 ±1,1
39.	Тр. сушеницы то- пяной	33,4± 1,5	89 .	К. солодки К. одуванчика	23,2± 1,1	139.	Л. подорожника больш. Пл. шиповника	23,4 ±1,1

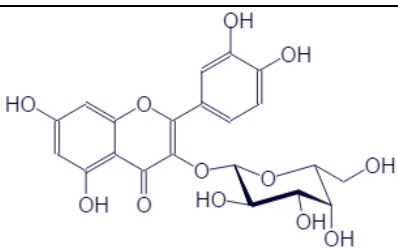
	Л. подорожника больш. Пл. шиповника			Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля			Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля	
40.	Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины	52,1± 2,3	90	К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля С. Льна	39,4± 1,2	140.	Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля С. Льна	47,1 ±2,3
41.	Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен.	52,1± 2,3	91	Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина	12,1± 0,5	141.	Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина	38,3 ±1,3
42.	Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого	65,2± 2,3	92	Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина Цв. Липы	17,2± 0,7	142.	Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарст. Пл. аниса обыкновен. Тр. Melissa лекарст. Ш. хмеля С. льна Пл. тмина Цв. Липы	41,2 ±1,2
43.	Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки	46,2± 1,4	93	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины	23,1± 0,9	143.	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен. Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарст. К. одуванчика	31,4 ±1,1
44.	Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарст.	26,3± 0,6	94	Цв. Ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины	13,1± 0,4	144	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновен.	30,1 ±1,3

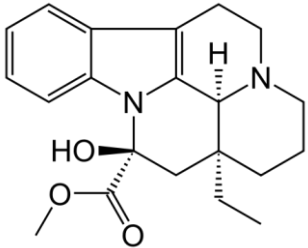
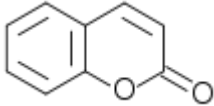
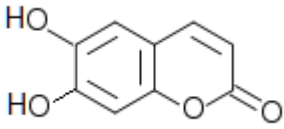
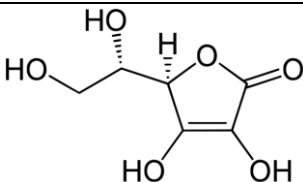
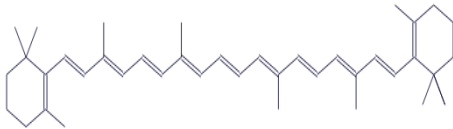
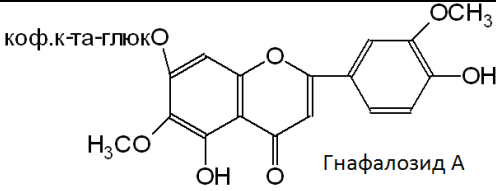
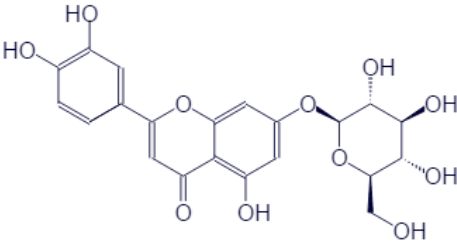
				Тр. полыни обыкновенной.			Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарственного. К. одуванчика Тр. Melissa лекарственная.	
45.	К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного.	56,2± 2,1	95	Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого	14,2± 0,2	145	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарственного. К. одуванчика Тр. Melissa лекарственная. Цв. липы	34±1 ,5
46.	К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенной.	19,4± 0,4	96	Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки	11,1± 0,4	147	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарственного. К. одуванчика Тр. Melissa лекарственная. Цв. липы Пл. аниса	32,3 ±1,4
47.	Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенной. Тр. Melissa лекарственной.	12,1± 0,5	97	Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарственного.	10,1± 0,3	148	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарственного. К. одуванчика Тр. Melissa лекарственной. Цв. липы Пл. аниса Сопл. хмеля	25,2 ±1,3
48.	Пл. аниса обыкновенной. Тр. Melissa лекарственной. Ш. хмеля	14,7± 0,7	98	Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного.	15,3± 0,5	149	Пл. боярышника Цв. ромашки Л. мяты перечной Тр. сушеницы топяной Л. подорожника больш. Пл. шиповника Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки Тр. донника лекарственного. К. одуванчика	22,3 ±1,1

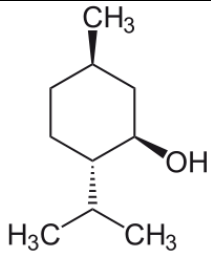
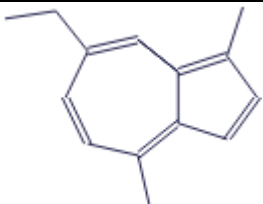
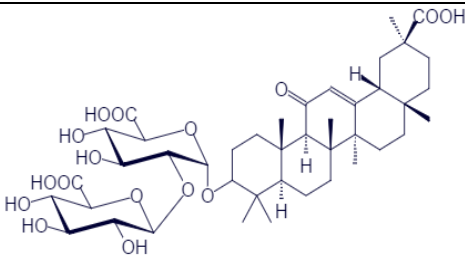
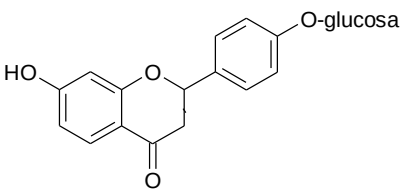
							Тр.мелиссы лекарст. Пл.льна Цв.липы Пл.аниса Сопл.хмеля	
49.	Тр. мелиссы лекарст. Ш. хмеля С. Льна	4,2±0,2	99.	Пл. рябины Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенной.	58,1±2,2	150.	Рутин	80,3±2,8
50.	Ш. хмеля С. льна Пл. тмина	21,1±0,8	100.	Тр. полыни обыкновенной. Тр. барвинка малого К. солодки К. одуванчика Тр. донника лекарственного. Пл. аниса обыкновенной. Тр. мелиссы лекарственной.	23,1±1,1	151.	Аскорбиновая кислота	79,1±3,1

Согласно полученным данным, наиболее высокой антиоксидантной активностью обладали составы № 99 (АОА - 58%), № 110 (АОА - 58%), № 126 (АОА - 70%), № 135 (АОА - 77%). После проведенного анализа данных композиций в качестве окончательного выбран состав № 135, состоящий из 11 видов ЛРС. Компоненты, вошедшие в сбор, обеспечивают комплексное воздействие на все патогенетические звенья изучаемой патологии, так как охватывают все прогнозируемые фармакологические эффекты (таблица 3.2.2). Кроме того, в состав сбора вошли виды ЛРС, дублирующие друг друга по видам специфической активности, что предполагает обеспечение поливалентности лечебного действия при одновременном снижении побочного эффекта [57, 116].

Таблица 3.2.2 - Состав разработанного сбора при НМК
и фармакологические свойства компонентов

Компоненты сбора	Основной компонент БАВ сырья, обуславливающий фармакологический эффект	Виды фармакологической активности
Плоды боярышника		Улучшение мозгового кровообращения

	Гиперозид	
Трава барвинка малого	 Винкамин	
Трава донника	 Кумарин	Антикоагулянтный Антиагрегантный
Трава полыни Обыкновенной	 Эскулетин	
Плоды шиповника	 Аскорбиновая кислота	Антиоксидантный Ангиопротекторный
Плоды рябины	Аскорбиновая кислота (см. выше)  β-каротин	
Трава сушеницы	 Гнафалозид  Цинарозид	Гипотензивный

Плоды боярышника	Гиперозид (см.выше)	
Трава барвинка малого	Винкамин (см.выше)	
Листья мяты перечной	 Ментол	Спазмолитический Седативный
Цветки ромашки	 Хамазулен	
Корни солодки	 Глицирризиновая кислота  Ликвиритин	Антиатеросклеротический Гипохолестеринемический
Листья подорожника Большого	Полисахариды	

При подборе соотношения компонентов в сборе исходили из того, что каждый компонент влияет на многочисленные звенья патогенеза НМК, обеспечивая в различной степени прогнозируемые фармакологические свойства. Учитывали различные методологические подходы известных фитотерапевтов [102, 116, 128, 154, 207], а также важность каждого из компонентов для оказания конечного

фармакологического эффекта. Так, проф. Пашинский В.Г. при составлении прописей сборов использует компоненты в равных частях. Проф. Соколов С.Я. в своих авторских сборах увеличивает в 1,5, 2 и 3 раза компоненты, на его взгляд, отвечающие за основной фармакологический эффект. Проф. Корсун В.Ф. при составлении сборов делит растительное сырье на несколько групп: со слабой, средней и сильной активностью. ЛРС с сильной активностью автор использует в количестве 1 части, средней – 2-3 части, слабой – 4 части. Проф. Куркиным В.А. разработан специальный коэффициент оптимизации, который показывает степень уменьшения массы ЛРС относительно базового (отвечающего за основной фармакологический эффект) растения [102, 116, 128, 154, 207]. Нами же предлагается свой методологический подход при подборе частей компонентов. Мы выделяем 1-2 вида ЛРС, на наш взгляд являющимися базовыми, что согласуется с подходами проф. Куркина В.А., и предлагаем увеличивать их в 2 раза по отношению к остальным компонентам. При использовании сильнодействующего растения или имеющего какие-либо другие особенности (аллергические реакции, горький вкус и т.п.), уменьшаем его в 2 раза от остальных компонентов. В прописи № 135, выбранной на основании экспериментальных исследований, нами в качестве базовых видов выделены трава донника и барвинка малого. Поэтому траву донника, как классического антикоагулянта, обладающего также антиоксидантной, антигипоксической и седативной активностью взяли 2 части. Количество травы барвинка малого не стали увеличивать, так как это растение является алкалоидоносным и относится к сильнодействующим. Но и не стали и уменьшать, так как оно выбрано нами в качестве базового растения. Всех остальных компонентов в прописи взяли в равных соотношениях по одной части.

Разработанный сбор получил название «Ангиофит-НМК»:

Трава донника	2 части
Трава барвинка малого	1 часть
Плоды боярышника	1 часть
Плоды рябины	1 часть
Плоды шиповника	1 часть

Трава сушеницы топяной	1 часть
Трава полыни обыкновенной	1 часть
Листья подорожника большого	1 часть
Листья мяты перечной	1 часть
Цветки ромашки	1 часть
Корень солодки	1 часть

Описанные подходы к составлению сбора «Ангиофит-НМК» нами были подтверждены в ходе токсико-фармакологических испытаний (глава 6).

При разработке сбора при ИБС мы несколько изменили подход. Одной из основных целей лекарственной терапии ИБС является улучшение сократительной функции сердца, следовательно, кардиотонические препараты имеют значение в лечении больных. Поэтому при экспериментальном обосновании на первом этапе был проведен фармакологический скрининг антиоксидантной и кардиотонической активности выбранных нами 22 видов ЛРС. Кардиотоническую активность ЛРС определяли с использованием спектрофотометрической методики Чекмана И.С, предложенной для первичного отбора БАВ, потенциально обладающих кардиотоническим действием [256]. Листья ландыша, содержащие сердечные гликозиды, нами были взяты в качестве препарата сравнения для подтверждения объективности методики. Согласно методике (глава 2, п. 2.2.4.), величина константы устойчивости образующихся комплексов химических соединений с ионами кальция при превышении 100 г/моль свидетельствует о наличии кардиотонической активности (таблица 3.2.3).

Как видно из результатов, представленных в таблице, кардиотонической активностью потенциально могут обладать следующие виды ЛРС: плоды боярышника, листья мяты перечной, столбики с рыльцами кукурузы, трава пустырника, трава донника, листья земляники, трава золототысячника. Данные виды ЛРС можно использовать в качестве основных компонентов при разработке растительного сбора для лечения больных ИБС.

Таблица 3.2.3 - Константы устойчивости комплекса биологически активных соединений лекарственного растительного сырья с ионами кальция

Лекарственное растительное Сырье	Константа устойчивости л/моль	Наблюдаемый инотропный эффект
Листья мяты перечной	101,8±5,5	Положительный
Плоды боярышника	150,0±6,7	Положительный
Трава барвинка малого	104,0±5,4	Положительный
Листья подорожника большого	36,5±1,6	Отрицательный
Трава полыни обыкновенной	53,1±2,7	Отрицательный
Трава пустырника	102,2±5,9	Положительный
Плоды рябины	14,3±0,8	Отрицательный
Корни одуванчика	51,1±2,9	Отрицательный
Трава донника	241,0±10,9	Положительный
Трава сушеницы топяной	17,6±0,8	Отрицательный
Цветки ромашки аптечной	36,6±1,9	Отрицательный
Трава мелиссы лекарственной	68,4±3,9	Отрицательный
Соплодия хмеля	54,2±2,8	Отрицательный
Плоды рябины черноплодной	53,6±2,6	Отрицательный
Плоды тмина	12,5±0,6	Отрицательный
Столбики с рыльцами кукурузы	216,6±13,6	Положительный
Листья земляники лесной	183,3±9,5	Положительный
Корень солодки	75,7±3,5	Отрицательный
Трава тысячелистника	95,6±4,4	Отрицательный
Трава золототысячника	140,2±7,1	Положительный
Корневища и корни девясила	77,6±3,6	Отрицательный
Плоды шиповника	41,0±2,1	Отрицательный
Листья ландыша	133,3±6,3	Положительный

Одним из факторов риска развития ИБС являются изменения в работе антиоксидантной системы, маркерами нарушения которой являются, в первую очередь, продукты перекисного окисления липидов. Инициация ПОЛ при ИБС обусловлена снижением активности естественных антиоксидантных ферментов и дефицитом антиоксидантов [8, 138]. Для определения антиоксидантной активности 22 видов ЛРС, выбранных в процессе информационно-литературного поиска, нами использована *методика 1* (глава 2, п.2.2.4.). Полученные результаты исследования представлены в таблице 3.2.4.

Таблица 3.2.4 - Определение антиоксидантной активности ЛРС

№ п/п	Виды лекарственного растительного сырья	АОА, %
1.	Листья мяты перечной	27,0± 0,9
2.	Плоды боярышника	32,2±0,8
3.	Листья подорожника большого	26,1±0,9
4.	Трава полыни обыкновенной	25,4±0,9
5.	Трава сушеницы топяной	13,7±0,1
6.	Трава пустырника	29,5±0,2
7.	Плоды рябины	62,2±1,9
8.	Трава барвинка малого	46,4±1,6
9.	Трава донника	56,0±2,0
10.	Плоды аронии черноплодной	59,1±0,2
11.	Цветки ромашки аптечной	11,3±0,3
12.	Корни одуванчика	49,2±1,8
13.	Соплодия хмеля	43,0±1,3
14.	Трава мелиссы лекарственной	17,2±0,4
15.	Плоды тмина	33,4±1,1
16.	Кукурузные столбики с рыльцами	11,5±0,1
17.	Листья земляники лесной	18,9±0,9
18.	Корни солодки	17,1±0,6
19.	Трава тысячелистника	49,5±1,1
20.	Трава золототысячника	56,3±1,2
21.	Корневища и корни девясила	30,2±1,3
22.	Плоды шиповника	49,1±1,7

Антиоксидантной активностью, согласно полученным данным, в той или иной степени обладают все исследуемые виды ЛРС. Наиболее сильные антиоксиданты имеют значения АОО более 50% (плоды рябины, трава донника, плоды аронии черноплодной, трава золототысячника).

Исходя из полученных экспериментальных данных (таблица 3.2.3 и 3.2.4), нами были отобраны 9 видов ЛРС (плоды боярышника, листья мяты перечной, столбики с рыльцами кукурузы, трава пустырника, трава донника, листья земляники лесной, трава золототысячника, плоды рябины и аронии черноплодной). При анализе полученной «матрицы» сбора, оказалось, что в сбор не вошли виды ЛРС, дублирующие друг друга по таким видам активности, как влияющие на коронарное кровообращение, обладающие спазмолитическим, кардиопротективным, антиагрегантным, антиангинальным и антистрессорным действием. В сбор последовательно были добавлены дополнительные компоненты (таблица 3.2.5) и у каждого состава исследована антиоксидантная активность (рисунок 3.2.1).

Таблица 3.2.5 - Исследуемые составы при разработке сбора при ИБС

№	Составы сборов	№	Составы сборов
1.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной	8.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной Трава барвинка малого
2.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной Плоды тмина	9.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной Трава барвинка малого Листья подорожника большого
3.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной	10.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной

	Плоды тмина Корневища и корни девясила		Трава барвинка малого Листья подорожника большого Корни одуванчика
4.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной Плоды тмина Корневища и корни девясила Соплодия хмеля	11.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной Трава барвинка малого Листья подорожника большого Корни одуванчика Трава сушеницы топяной
5.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной Плоды тмина Корневища и корни девясила Соплодия хмеля Трава полыни обыкновенной	12.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной Трава барвинка малого Листья подорожника большого Корни одуванчика Трава сушеницы топяной Цветки ромашки
6.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной Плоды тмина Корневища и корни девясила Соплодия хмеля Трава полыни обыкновенной Трава Melissa лекарственной	13.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной Трава барвинка малого Листья подорожника большого Корни одуванчика Трава сушеницы топяной Цветки ромашки Корни солодки
7.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной Плоды тмина Корневища и корни девясила Соплодия хмеля Трава полыни обыкновенной Трава Melissa лекарственной Корни одуванчика	14.	Плоды боярышника Листья мяты перечной Столбики с рыльцами кукурузы Трава пустырника Трава донника Листья земляники лесной Трава золототысячника Плоды рябины Плоды аронии черноплодной Трава барвинка малого Листья подорожника большого Корни одуванчика Трава сушеницы топяной Цветки ромашки Корни солодки Трава тысячелистника

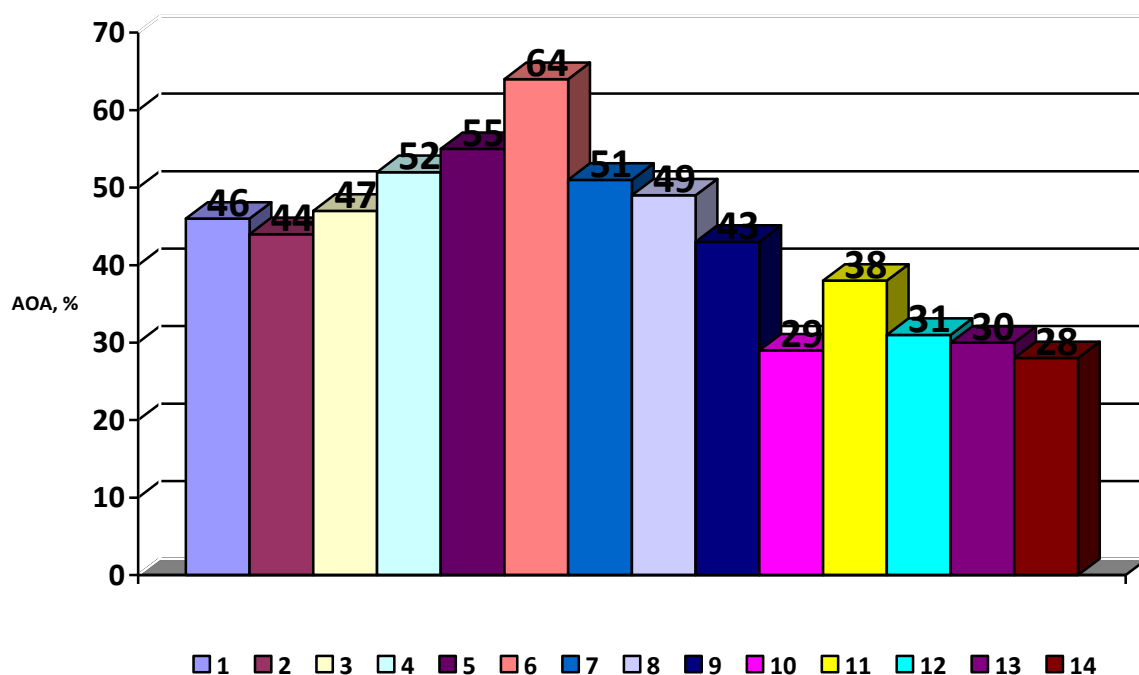
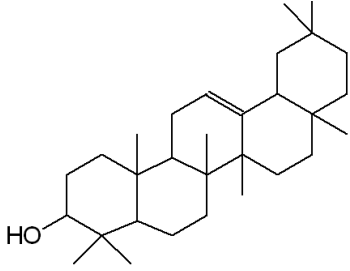
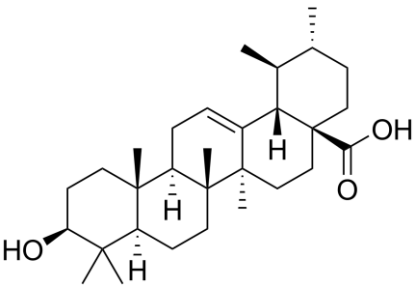
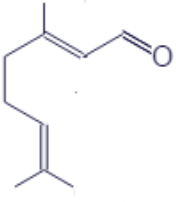
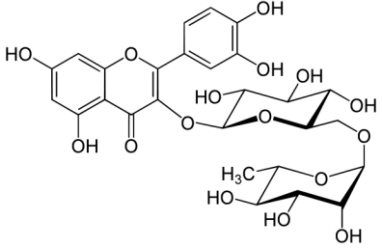
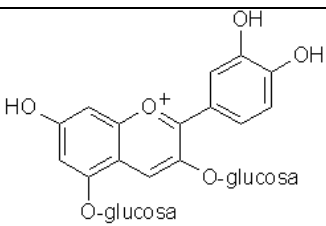
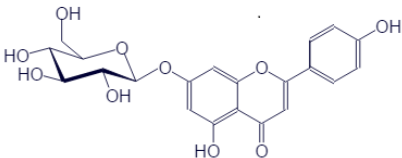
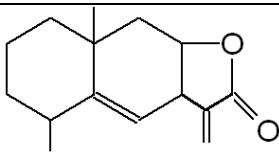
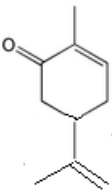
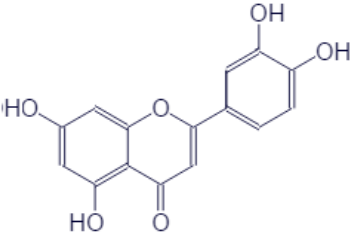


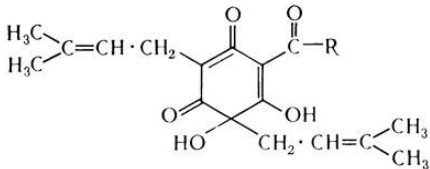
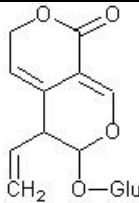
Рисунок 3.2.1. Антиоксидантная активность сборов, %

Согласно полученным результатам, представленным на рисунке 3.2.1, оказалось, что наибольшей антиоксидантной активностью обладала композиция № 6 ($64,4 \pm 1,9\%$). При анализе данного состава (таблица 3.2.6) видно, что в состав сбора вошли 14 видов лекарственного растительного сырья, обладающие прогнозируемыми фармакологическими свойствами, и биологически активные вещества которых, по нашим предположениям, должны обеспечить ожидаемый лечебный эффект. Кроме того, в состав сбора вошли виды ЛРС, дублирующие друг друга по видам специфической активности, что предполагает обеспечение поливалентности лечебного действия при одновременном снижении побочного эффекта [57, 116].

Таблица 3.2.6 - Состав разработанного сбора при ИБС
и фармакологические свойства компонентов

Компоненты сбора	Основной компонент БАВ сырья, обуславливающий фармакологический эффект	Виды фармакологической активности
Плоды боярышника	Гиперозид (см.выше)  Олеаноловая кислота  Урсоловая кислота	Антиангинальный Кардиопротективный Кардиотонический
Трава мелиссы лекарственной	Цинарозид (см.выше)  Цитраль	
Трава донника	Кумарин (см.выше)	Антикоагулянтный,
Трава полыни обыкновенной	Эскулетин (см.выше)	Антиагрегантный
Плоды аронии черноплодной	 Рутин	Антиоксидантный, Ангиопротекторный

	 Цианин	
Плоды рябины	Аскорбиновая кислота (см.выше)	
Трава пустырника	Рутин (см.выше)  Космосиин	Стесс-протективный Гипотензивный
Корневища и корни девясила	 Алантолактон	
Листья мяты перечной	Ментол (см.выше)	Спазмолитический
Плоды тмина	 Карвон	
Столбики с рыльцами Кукукурузы	 Лютеолин	Антиатеросклеротический Гипохолестеринемический
Листья земляники лесной	Аскорбиновая кислота (см.выше)	
Трава пустырника	Рутин, космосиин (см.выше)	Седативный

Соплодия хмеля	 Общая формула α-кислот	
Трава золототысячника	 Генциопикрин	Диуретический
Столбики с рыльцами кукурузы	Лютеолин (см.выше)	

При подборе соотношений компонентов в сборе использовался разработанный нами методологический подход, обсужденный выше в данной главе. В качестве базовых видов ЛРС нами выбраны трава мелиссы лекарственной и донника. Поэтому дозы данных видов ЛРС увеличили в 2 раза. Остальные компоненты в прописи взяты в равных соотношениях по 1 части. К листьям мяты перечной у пациентов часто бывает повышенная чувствительность, поэтому она нами взята в количестве $\frac{1}{2}$ части.

Разработанный сбор получил название «Кардиофит-ИБС»:

Трава донника лекарственного	2 части
Трава мелиссы лекарственной	2 части
Плоды боярышника	1 часть
Трава пустырника	1 часть
Соплодия хмеля	1 часть
Корневища и корни девясила	1 часть
Плоды аронии черноплодной	1 часть
Трава золототысячника	1 часть
Листья земляники лесной	1 часть
Трава полыни обыкновенной	1 часть
Столбики с рыльцами кукурузы	1 часть

Плоды рябины	1 часть
Плоды тмина	1 часть
Листья мяты перечной	$\frac{1}{2}$ части

Описанные подходы к составлению сбора были подтверждены в ходе исследований его биологической активности (глава 6).

Выводы по главе 3

1. На основании современных исследований по разработке лекарственных сборов разработан методологический подход по созданию лекарственных растительных средств на основе природных антиоксидантов.

2. На основании проведенного информационно-литературного поиска выбраны 25 видов ЛРС, обладающих различными видами фармакологической активности для составления сборов.

3. Проведен скрининг антиоксидантной активности 25 видов лекарственного растительного сырья и различных сочетаний на их основе для разработки сборов для профилактики и комплексного лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

4. Теоретически и экспериментально обоснована рецептура двух новых сборов для профилактики и комплексного лечения ишемической болезни сердца «Кардиофит-ИБС» и нарушений мозгового кровообращения «Ангиофит-НМК», базирующаяся на обработке обширного литературного материала и проведения фармакологического скрининга по выявлению наибольшей антиоксидантной активности.

ГЛАВА 4. ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИСТЬЕВ БОЯРЫШНИКА КРОВАВО-КРАСНОГО (*CRATAEGUS SANGUINEA* PALL.)

4.1. Морфолого-анатомическое исследование листьев боярышника кроваво-красного

Макроскопический анализ листьев боярышника кроваво-красного проводили при осмотре аналитической пробы визуально и с помощью лупы ($\times 10$). Установлены следующие макроскопические признаки: листья очередные, с прилистниками или без них, простые, короткочерешковые, яйцевидные с ширококлиновидным основанием, более или менее глубоко-лопастные с крупнозубчатым краем, длиной 2-6 см, шириной 2-8 см. Листовая пластинка с верхней стороны имеет зеленый цвет, с нижней – светло-зеленый. Жилки зеленые, выдаются с нижней стороны листа. Жилкование перисто-краевое (рисунок 4.1.1 А-Б). Имеются два прилистника несимметричной серповидной формы, с мелкопильчатым краем. С верхней стороны прилистники зеленого цвета, с нижней – светло-зеленая. Жилкование прилистников перисто-краевое (рисунок 4.1.1 В). Запах слабый. Вкус водного извлечения слабо-горьковатый.



Рисунок 4.1.1. Внешний вид листа боярышника кроваво-красного (А - верхняя сторона листа, Б - нижняя сторона листа, В - прилистники)

Микроскопический анализ листьев боярышника кроваво-красного проводили, предварительно подготовив временные микропрепараты листа и прилистника с поверхности, поперечные срезы листовой пластинки и черешка (глава 2., п.2.2.1.), согласно методике ГФ XI [56, 143].

В ходе микроскопического анализа листьев боярышника кроваво-красного с поверхности установлены следующие анатомо-диагностические признаки: мно-

гоугольные, прямостенные, с четковидными утолщениями клетки верхнего эпидермиса - (рисунок 4.1.2 А.) и извилистостенные – клетки нижнего эпидермиса (рисунок 4.1.2 Б.). На обеих сторонах листа кутикула образует складки (рисунок 4.1.2.). Устьица многочисленные, крупные, окружены 2-5 околоустьичными клетками (аномоцитный тип), располагаются на нижней стороне листа (рисунок 4.1.2 Б.). На обеих сторонах листа встречаются многочисленные простые волоски: одноклеточные, толстостенные, с основанием, погруженным в эпидермис (рисунок 4.1.3.). Они располагаются на нижней стороне листа преимущественно по жилкам, по краю и у основания (рисунок 4.1.3. и 4.1.4 Б.). В месте прикрепления волоска клетки эпидермиса образуют розетку из 5-7 округлых клеток, окрашенных в бурый цвет (эфирное масло) (рисунок 4.1.3.). В мезофилле листа и вдоль жилок встречаются крупные друзы и призматические кристаллы оксалата кальция в виде кристаллоносной обкладки (рисунок 4.1.3.). На верхушке листовой пластинки и сегментах листа расположены многоклеточные железки с бурым содержимым (рисунок 4.1.4 А.). При исследовании поперечного среза листовой пластинки было установлено, что у листа дорсовентральное строение (рисунок 4.1.4 В.). Рассматривая поперечный срез черешка листа боярышника (рисунок 4.1.5.) можно увидеть, что в черешке под эпидермисом наружной стороны находится два ряда уголкового колленхимы, в паренхиме располагается один коллатеральный пучок серповидной формы. На эпидермисе внутренней стороны встречаются простые одноклеточные волоски (рисунок 4.1.5 К.).

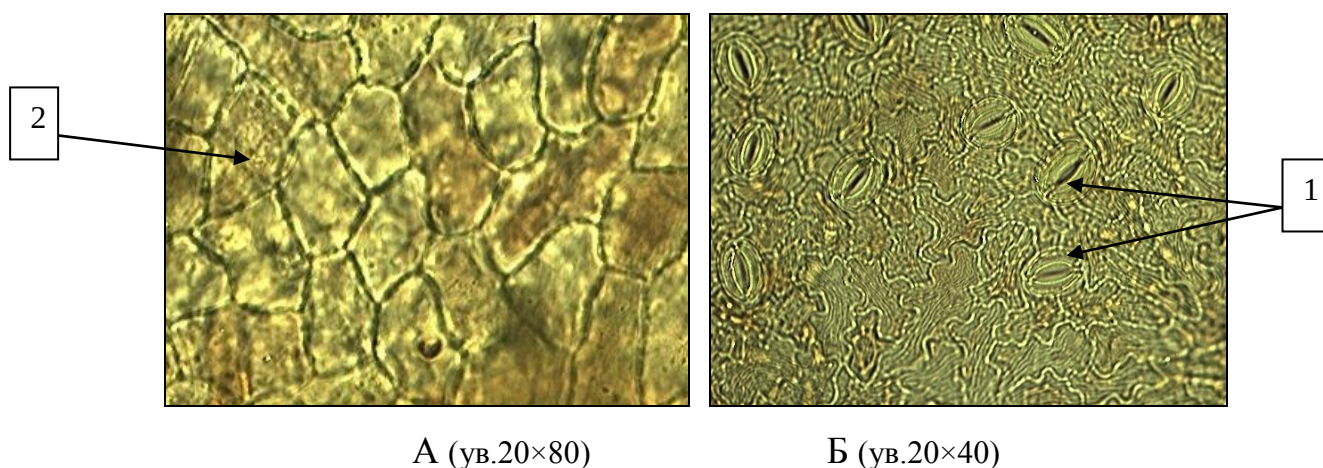


Рисунок 4.1.2. Эпидермис листа боярышника кроваво-красного (А - верхний эпидермис, Б - нижний эпидермис, 1 – устьичный аппарат аномоцитного типа, 2 - четковидные утолщения)

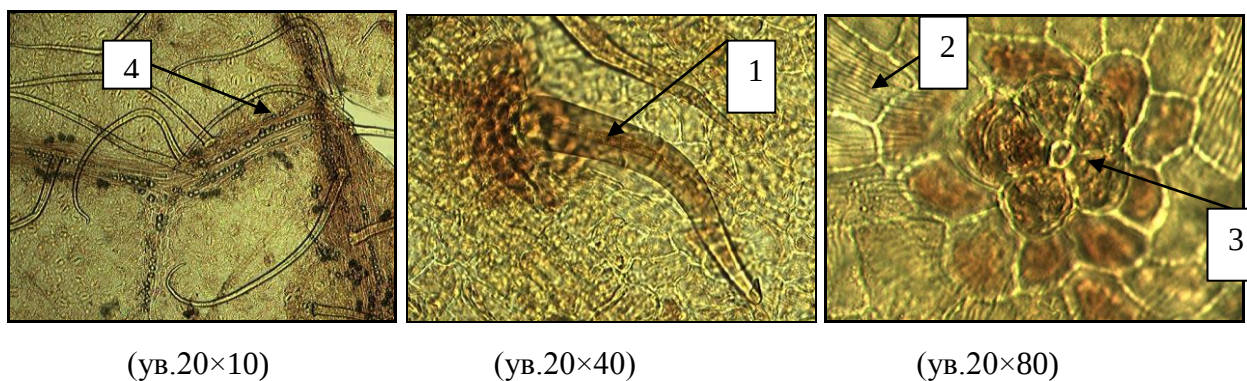


Рисунок 4.1.3. Эпидермис верхней стороны листа боярышника кроваво-красного (1 - простой одноклеточный волосок верхнего эпидермиса, 2 - складчатость кутикулы верхней стороны листа, 3 - основание волоска, 4 - кристаллоносная обкладка)

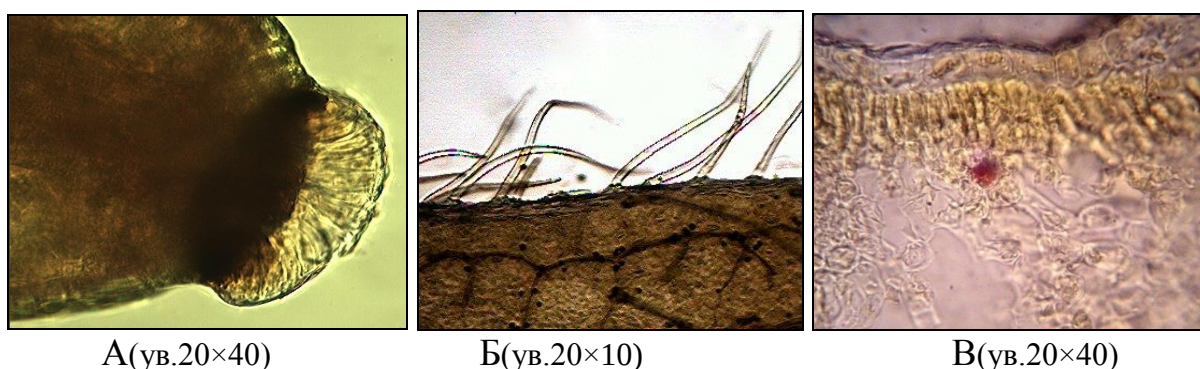


Рисунок 4.1.4. Микроскопические признаки листьев боярышника кроваво-красного (А - многоклеточная железа на верхушке зубца листа боярышника кроваво-красного, Б.- край листовой пластинки с простыми волосками, В - поперечный срез листовой пластинки)

При микроскопическом исследовании прилистников с поверхности установлены следующие анатомо-диагностические признаки: клетки со слабоизвилистой стенкой верхнего и нижнего эпидермиса с четковидными утолщениями (рисунок 4.1.5 Ж.). Кутикула на обеих сторонах образует складки (рисунок 4.1.5 Е.), наиболее сильно образующиеся около устьиц (рисунок 4.1.5 И.). Устьица крупные, многочисленные, расположенные на нижней стороне прилистника небольшими группами и окруженные 2-5 околоустьичными клетками (аномоцитный тип) (рисунок 4.1.5 И.). На верхней стороне прилистников редко встречаются простые одноклеточные, толстостенные волоски с основанием, погруженным в эпидермис (рисунок 4.1.5 Д.). В мезофилле прилистника и вдоль жилок встречаются крупные друзы и призматические кристаллы оксалата кальция в виде кристаллоносной обкладки жилок (рисунок 4.1.5 З.).

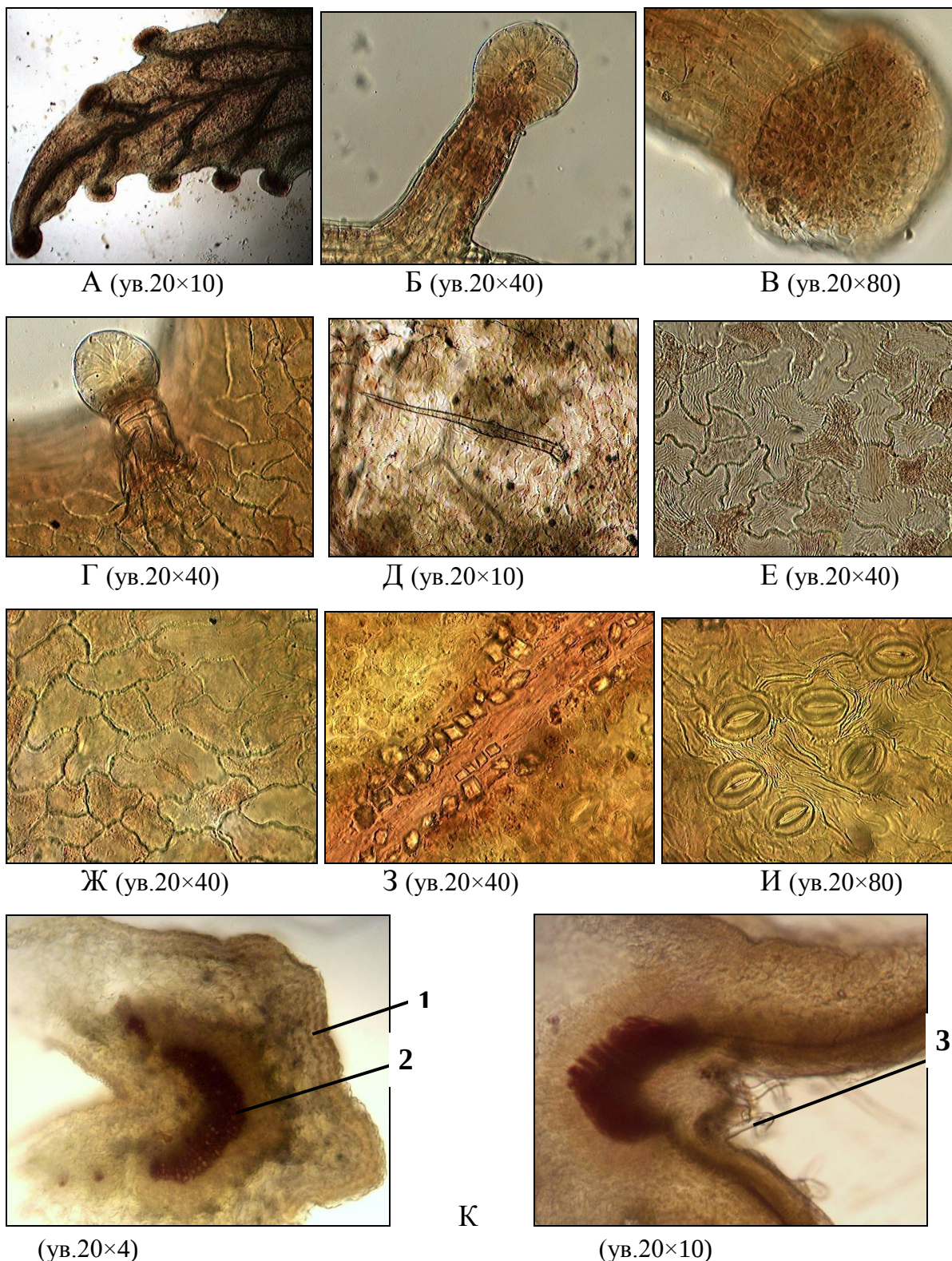


Рисунок 4.1.5. Микроскопические признаки прилистника листа боярышника кроваво-красного (А - общий вид, Б - железка на краю прилистника (многоклеточная головка на многоклеточной ножке), В - поверхность головки железки, Г - железка на поверхности эпидермиса прилистника, Д - одноклеточный простой волосок на верхней стороне прилистника, Е - эпидермис верхней стороны прилистника (складчатость кутикулы), Ж - эпидермис верхней стороны прилистника (четковидные утолщения), З - жилка прилистника, окрашенная суданом III (эфирное масло) и кристаллоносная обкладка жилки, И - устьица на нижней стороне прилистника, К - поперечный срез черешка (1 - колленхима, 2 - проводящий пучок, 3 - простые волоски на внутренней поверхности)

На верхушке прилистника и по краю располагаются многочисленные железки (многоклеточная головка на многоклеточной ножке) с бурым содержимым (рисунок 4.1.5 Б, В, Г). Они очень редко встречаются и на поверхности эпидермиса прилистников (рисунок 4.1.5 Г). Жилки прилистника окрашиваются суданом III в розовый цвет (рисунок 4.1.5 З).

Для разработки метода стандартизации по количественной оценке диагностически значимых признаков (ДЗП) листьев боярышника кроваво-красного (глава 6, п. 6.3.) выделены следующие анатомо-диагностические признаки (рисунок 4.1.2 и 4.1.3):

- извилистые клетки нижнего эпидермиса с погруженными устьицами, окруженными 2-5 клетками (аномотитный тип);
- простые волоски одноклеточные;
- основание простого волоска с розеткой клеток;
- многоклеточные железки на многоклеточной ножке.

4.2. Изучение химического состава, выделение и установление структуры биологически активных веществ листьев боярышника кроваво-красного

Листья боярышника кроваво-красного изучались в качестве нового перспективного вида лекарственного растительного сырья. В предварительных исследованиях после проведения качественных реакций (глава 2, п.2.2.3.1.) в различных извлечениях (водных, щелочных, кислотных, спиртовых 70 %, 95 %) листьев боярышника кроваво-красного обнаружены следующие группы БАВ: полифенольные соединения конденсированной природы, полисахариды, тритерпеновые сапонины, флавоноиды, кумарины, аскорбиновая кислота (таблица 4.2.1).

Таблица 4.2.1 - Качественный анализ листьев боярышника кроваво-красного

Группа БАВ	Качественная реакция (реагент)	Ожидаемый аналитический эффект	Результат реакции (+) или (-) (экстрагент)
Флавоноиды	Цианидиновая проба	Красное, красно-оранжевое окрашивание	+ 70% спирт
	2% спиртовый раствор алюминия хлорида	Желтое окрашивание	+ 70% спирт
	10% спиртовый раствор калия гидроксида	Желтое окрашивание	+ 70% спирт
	1% спиртового раствора железа хлорида	Красновато-бурое окрашивание	+ 70% спирт
Сапонины	Реакция пенообразования	Образование пены в пробирке с извлечением	+ Вода
	Реакция Лафона	Сине-зеленое окрашивание	+ Вода
	Реакция осаждения раствором ацетата свинца	Осадок	+ Вода
Кумарины	Лактонная проба	Желтое окрашивание => помутнение раствора и выпадение осадка	+ 95% спирт
	Диазореакция	Вишневое или кроваво-красное окрашивание	+ 95% спирт
Дубильные вещества: -гидролизуемые -конденсиро-	Раствор железосиньных квасцов	Черно-синее окрашивание или осадок	-
		Черно-зеленое окрашивание	+ Вода

ванные		или осадок	
Полисахариды	Реакция осаждения этиловым спиртом 95%	Хлопьевидные сгустки =>осадок	+ Вода
	Реактив Фелинга	Осадок красно-оранжевого цвета	+ Вода
	Раствор меди сульфата	Синее окрашивание	+ Вода
Аскорбиновая Кислота	Хроматографический анализ		+ Вода
Алкалоиды	Раствор танина	Осадок	- 1% раствор хлористоводородной кислоты
	Пикриновая кислота	Желтый осадок	- 1% раствор хлористоводородной кислоты
	Реактив Зонненштейна	Желтоватый осадок	- 1% раствор хлористоводородной кислоты
Хромоны	Кислота серная конц.	Лимонно-желтое окрашивание	- 95% спирт
	Концентрированные щелочи	Пурпурно-красное окрашивание	- 95% спирт
Антрагликозиды 1,8-диоксиантрахиноны 1,4-диоксиантрахиноны 1,2-диоксиантрахиноны	Реакция Борнтредера	Окраска аммиачного слоя - вишнево-красная - пурпурная - фиолетовая	- - - 10% спиртовый раствор едкого натра

Исследование химического состава листьев боярышника кроваво-красного зависит от используемой схемы выделения веществ. Нами разработана следующая схема выделения БАВ из листьев боярышника кроваво-красного (рисунок 4.2.1)

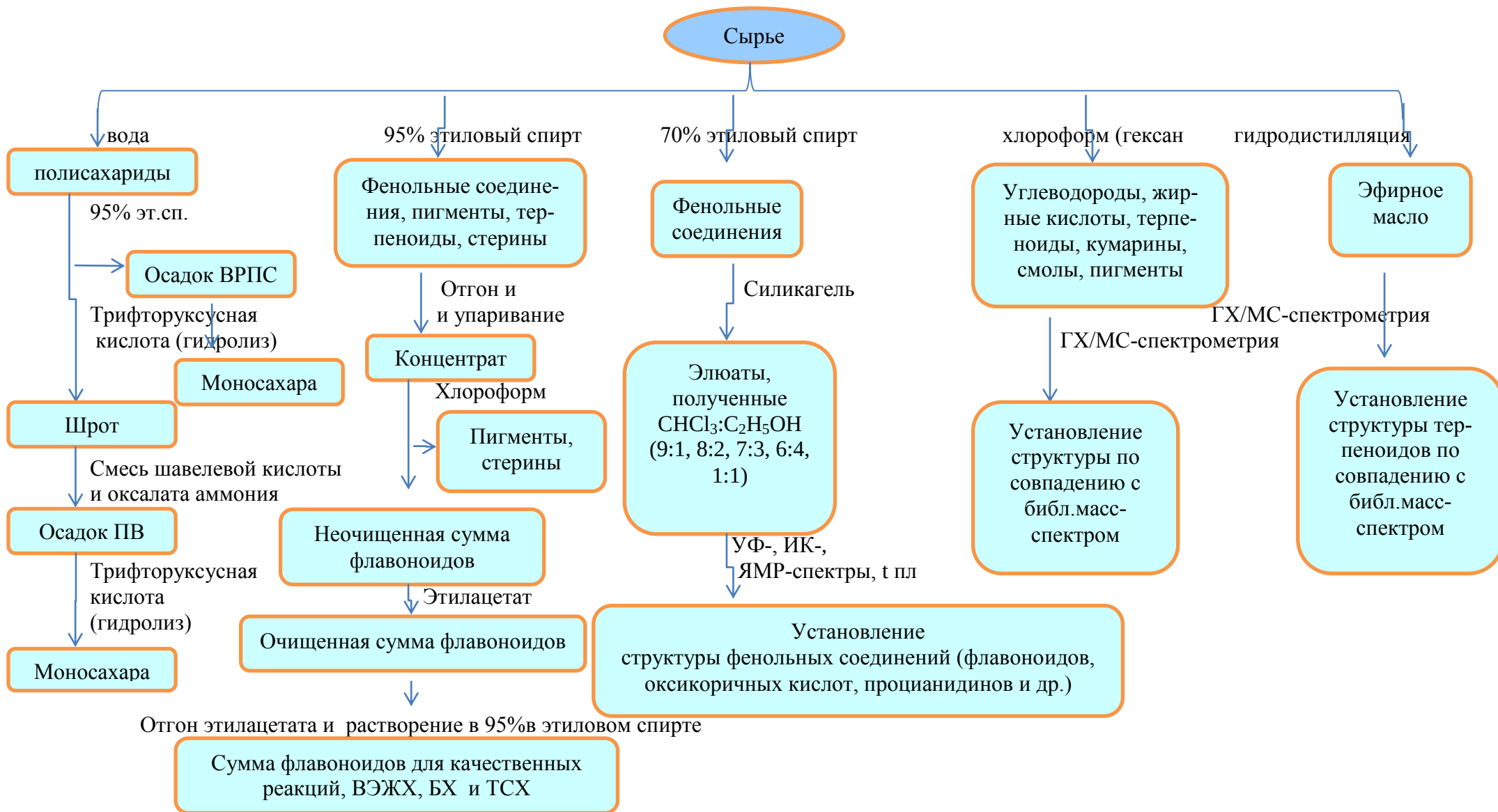


Рисунок 4.2.1. Схема выделения биологически активных веществ из листьев боярышника кроваво-красного

4.2.1. Исследование качественного состава хроматографическими методами

Тонкослойная хроматография

С использованием тонкослойной хроматографии (ТСХ) были исследованы извлечения листьев боярышника кроваво-красного, полученные 95% этиловым спиртом в соотношении 1:10. Наилучшее разделение было достигнуто при использовании следующих систем растворителей: муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота - вода - метанол - ацетон - хлороформ (6:6:7,5:12,5:30:60), этилацетат - муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота - вода (100:11:11:26), этилацетат - муравьиная кислота - вода (14:3:3), хлороформ - ЛУК - метанол - вода (15:8:3:2).

Хроматограммы проявляли хромогенными реактивами, просматривали в УФ-свете до и после обработки реактивами (глава 2, п. 2.2.3.1.).

В исследуемых извлечениях на всех хроматограммах проявляется около 7 пятен. Судя по хроматографическому поведению (свечению в УФ-свете, цвету пятен и окраске хромогенными реактивами) выявленные вещества относятся к фенольным соединениям. Сравнение со стандартными образцами позволило идентифицировать рутин, гиперозид и хлорогеновую кислоту (рисунок 4.2.1.1).

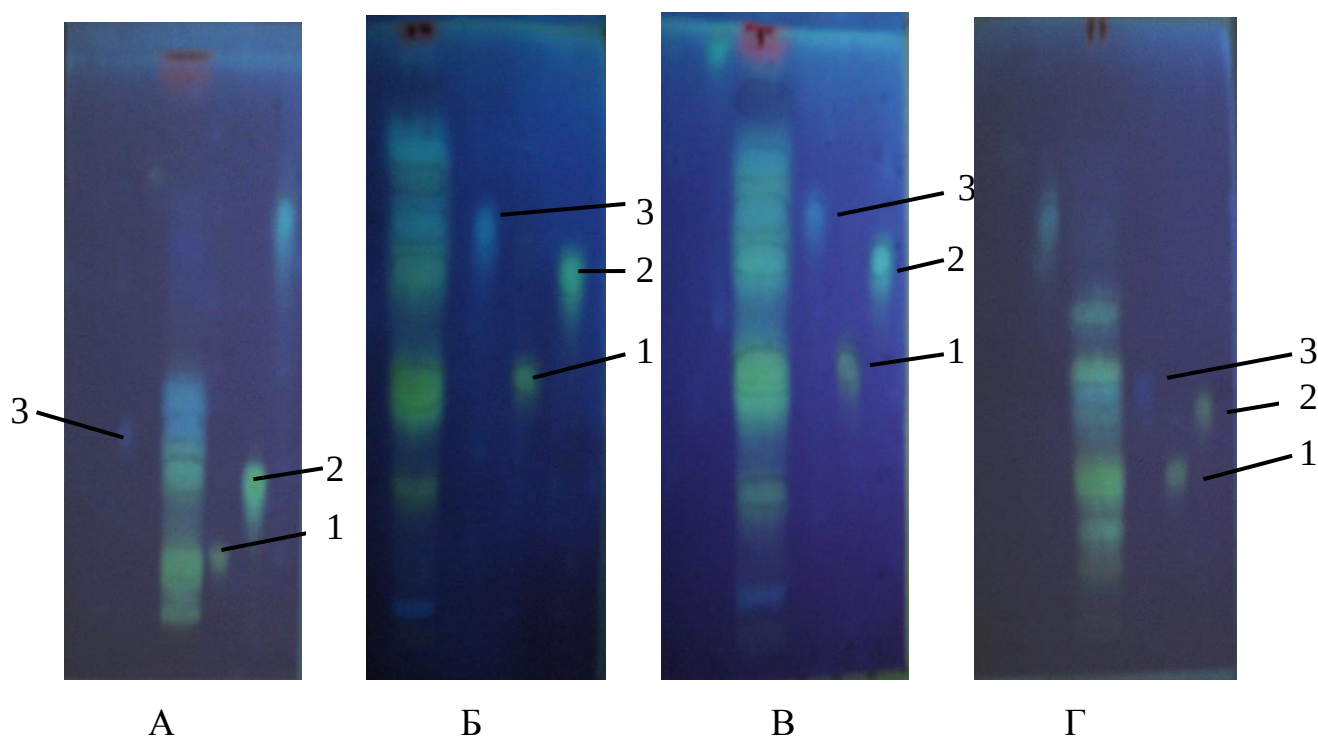


Рисунок 4.2.1.1. Фотографии хроматограмм в системах: А - муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота - вода - метанол - ацетон - хлороформ (6:6:7,5:12,5:30:60), Б - этилацетат - муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота - вода (100:11:11:26), В - этилацетат - муравьиная кислота - вода (14:3:3), Г - хлороформ - ледяная уксусная кислота - метанол - вода (15:8:3:2) (1-рутин, 2-гиперозид, 3-хлорогеновая кислота)

Вещества, соответствующие стандартным образцам, элюированы с хроматографических пластин. Кристаллизацию и перекристаллизацию осуществляли этиловым спиртом. У выделенных веществ были сняты УФ- и ИК-спектры. Спектральные характеристики данных соединений совпали с характеристиками свидетелей (рисунок 4.2.1.2, 4.2.1.3, 4.2.1.4).

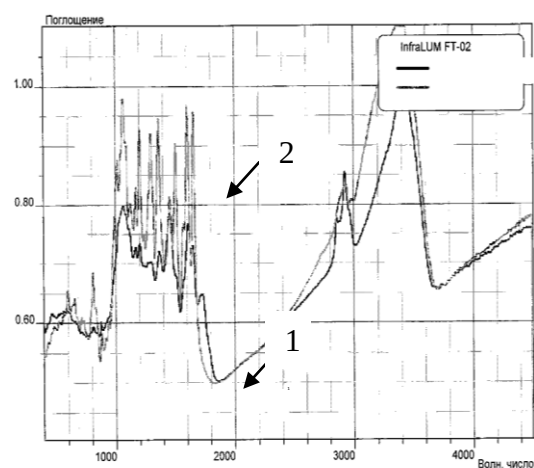
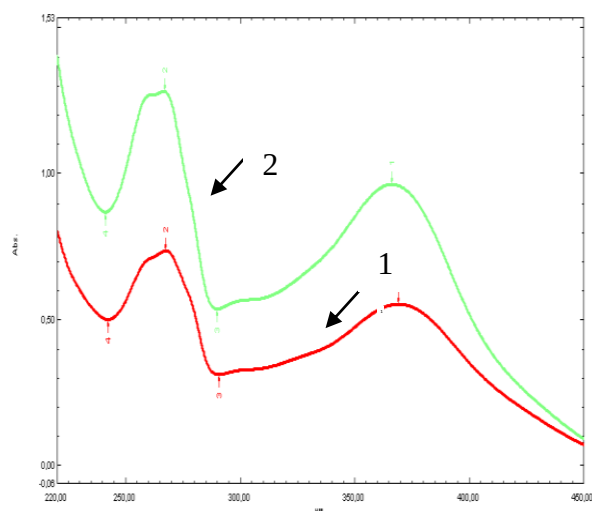


Рисунок 4.2.1.2. УФ- и ИК-спектры поглощения вещества 1 с хроматограмм (1) и СО рутина (2).

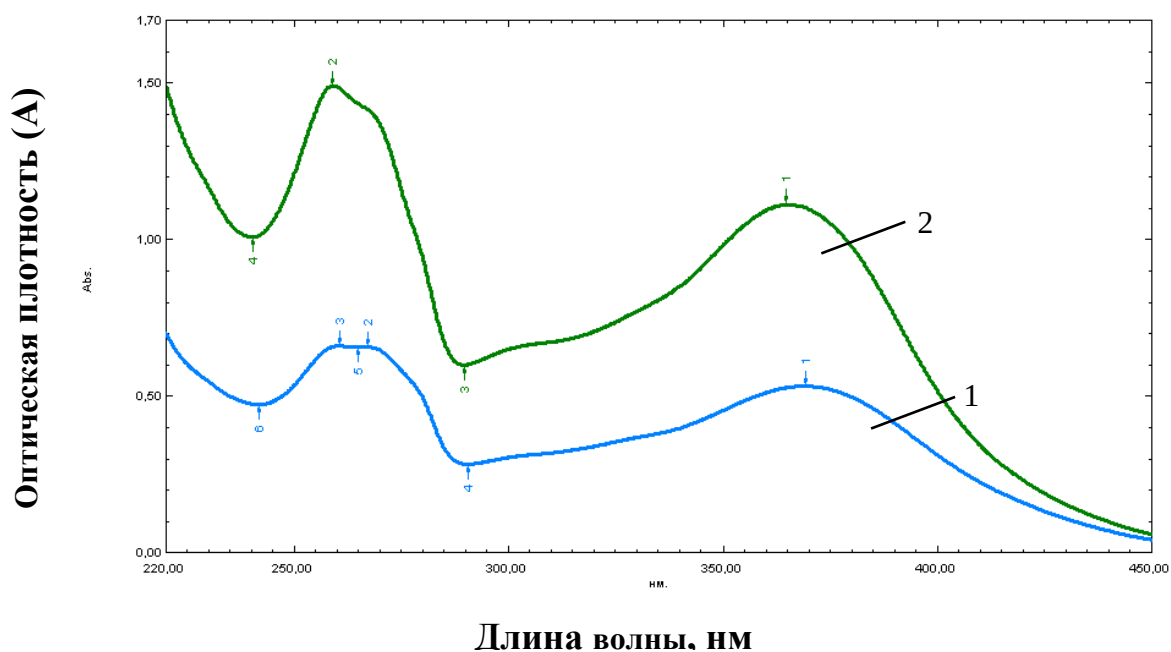


Рисунок 4.2.1.3. Спектры поглощения вещества 2 с хроматограмм (1) и СО гиперозида (2).

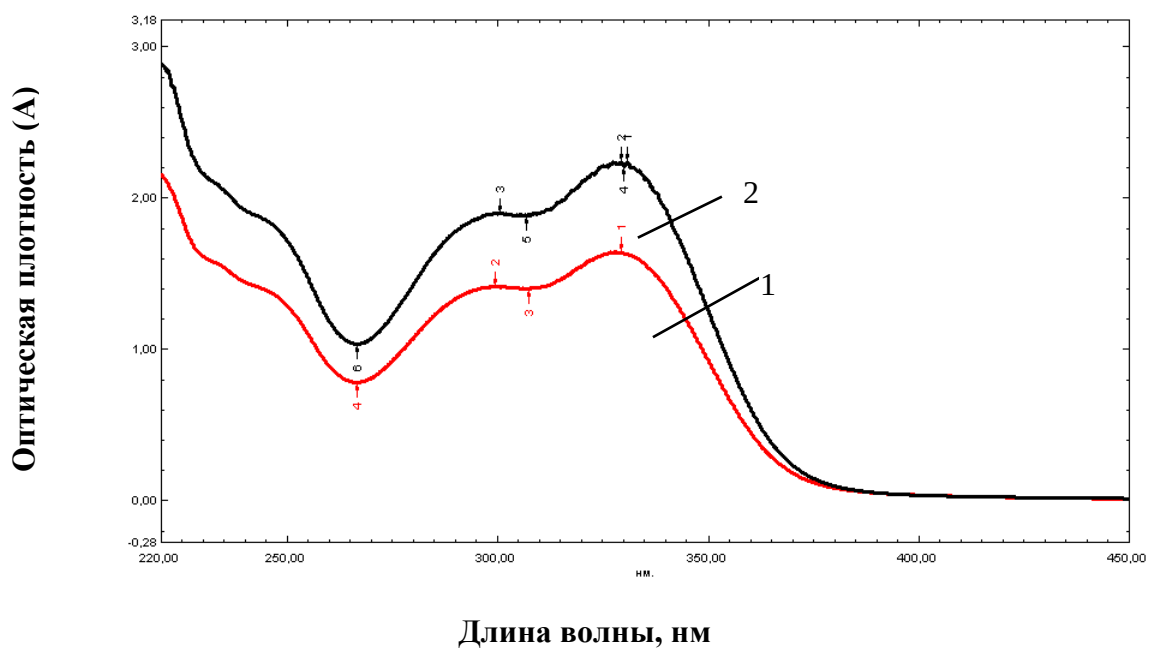


Рисунок 4.2.1.4. Спектры поглощения вещества 3 с хроматограмм (1) и СО хлорогеновой кислоты (2).

Хроматоденситометрические исследования

С использованием хроматоденситометра «Сорбфил» версия 2.0. исследованы спиртовые извлечения листьев боярышника кроваво-красного, полученные с использованием 70, 80 и 95 % этилового спирта. В качестве оптимальной выбрана следующая система растворителей: муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота - вода - метанол - ацетон - хлороформ (6:6:7,5:12,5:30:60). Для исследований были использованы различные хроматографические пластинки «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ», «Сорбфил ПТСХ-АФ-А», «Сорбфил ПТСХ-АФ-В-УФ». Оказалось, что все три извлечения дают примерно одинаковую хроматографическую картину, но интенсивность свечения пятен 80% спиртового извлечения сильнее, что косвенно говорит о большей концентрации биологически активных веществ.

На линию старта хроматографической пластинки, предварительно активированной в течение 30 мин при температуре 105°C, микрошприцом наносили по 5 мкл подготовленного извлечения и 0,05% растворов стандартных образцов веществ. Пластинку с нанесенными пробами высушивали на воздухе, затем помещали в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру, и хроматографировали восходящим способом. Когда фронт растворителей проходил около 8-9 см, пластинку вынимали из камеры, сушили на воздухе в течение 5 минут. Затем просматривали хроматограммы в УФ-свете при длине волны 254 и 365 нм. После проявляли пластинки 5% спиртовым раствором алюминия хлорида и наблюдали изменение окраски пятен. Сканирование проводили с использованием сканирующего денситометра «Сорбфил» (г. Краснодар, Россия).

Наилучшее разделение веществ было достигнуто при использовании хроматографической пластинки «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ» без окрашивания и «Сорбфил ПТСХ-АФ-А» с окрашиванием хлоридом алюминия. При просмотре хроматограммы «Сорбфил ПТСХ-АФ-А» на денситометре при 365 нм было обнаружено 7 зон адсорбции (рисунок 4.2.1.5). При сравнении со стандартными образцами зона с R_f около 0,04 идентифицирована как рутин, с R_f около 0,17 - гиперозид, с R_f около 0,78 - хлорогеновая кислота.

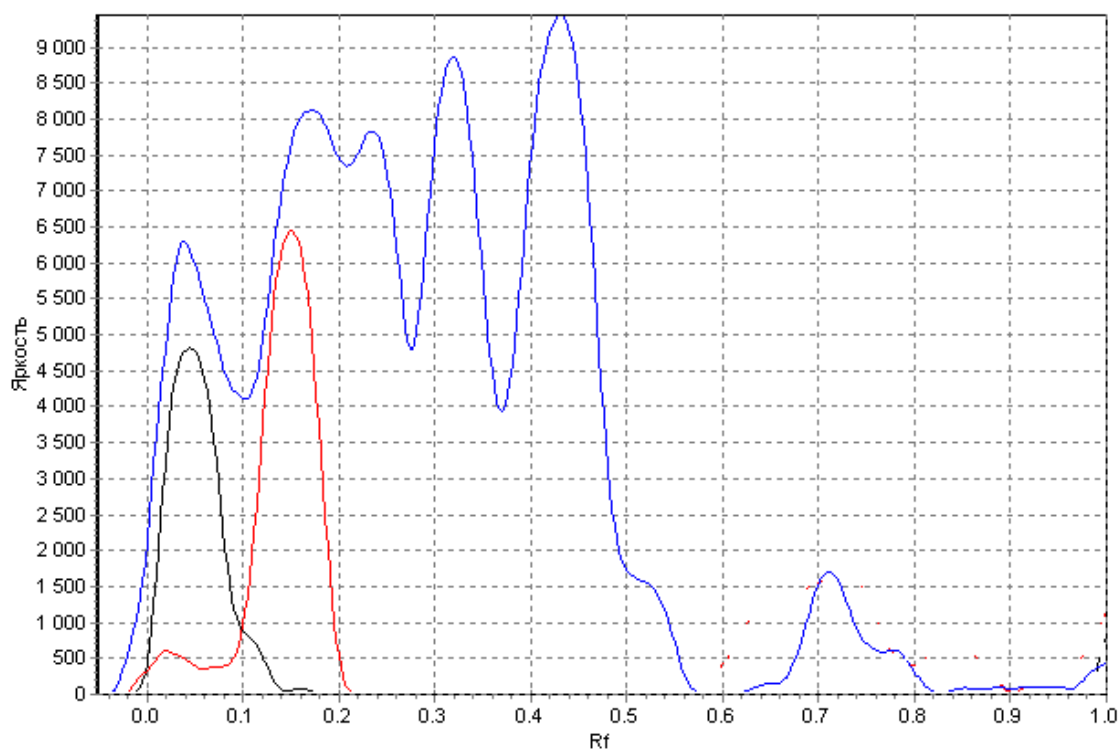


Рисунок 4.2.1.5. Денситограмма листьев боярышника кроваво-красного и стандартных образцов при 365 нм (синяя линия - листья боярышника, черная линия - рутин, красная линия - гиперозид).

С использованием видеоденситометра в анализируемой пробе было определено соотношение индивидуальных веществ, как и при использовании ВЭЖХ (таблица 4.2.1.1). Соотношение определяли по площади и высоте пиков. Так, согласно полученным данным доминирующими веществами в пробе являются вещества с R_f 0,43, 0,32 и 0,17 (гиперозид) (рисунок 4.2.1.5).

Таблица 4.2.1.1 - Данные денситограммы листьев боярышника кроваво-красного

Пик	R_f	S	%S	H	%H	Описание
1	0,04	230895	15,5	6287	14,7	Рутин
2	0,16	320780	21,6	8124	19	Гиперозид
3	0,23	207239	13,9	7832	18,3	
4	0,32	277694	18,7	8866	20,7	
5	0,43	394242	26,5	9447	22	
6	0,71	46614	3,1	1697	4	
7	0,78	9022	0,6	615	1,4	Хлорогеновая кислота

Были проанализированы несколько серий листьев боярышника, собранных в разные годы и в различных районах Башкортостана. Оказалось, что при сохра-

нении 7 зон адсорбции, соотношение веществ было различным, что доказывает варьирование количественного содержания биологически активных веществ в сырье в зависимости от климатических условий (рисунок 4.2.1.6). Подобное непостоянство соотношения индивидуальных веществ в сырье в зависимости от условий произрастания отмечалось исследователями ранее [131, 140].

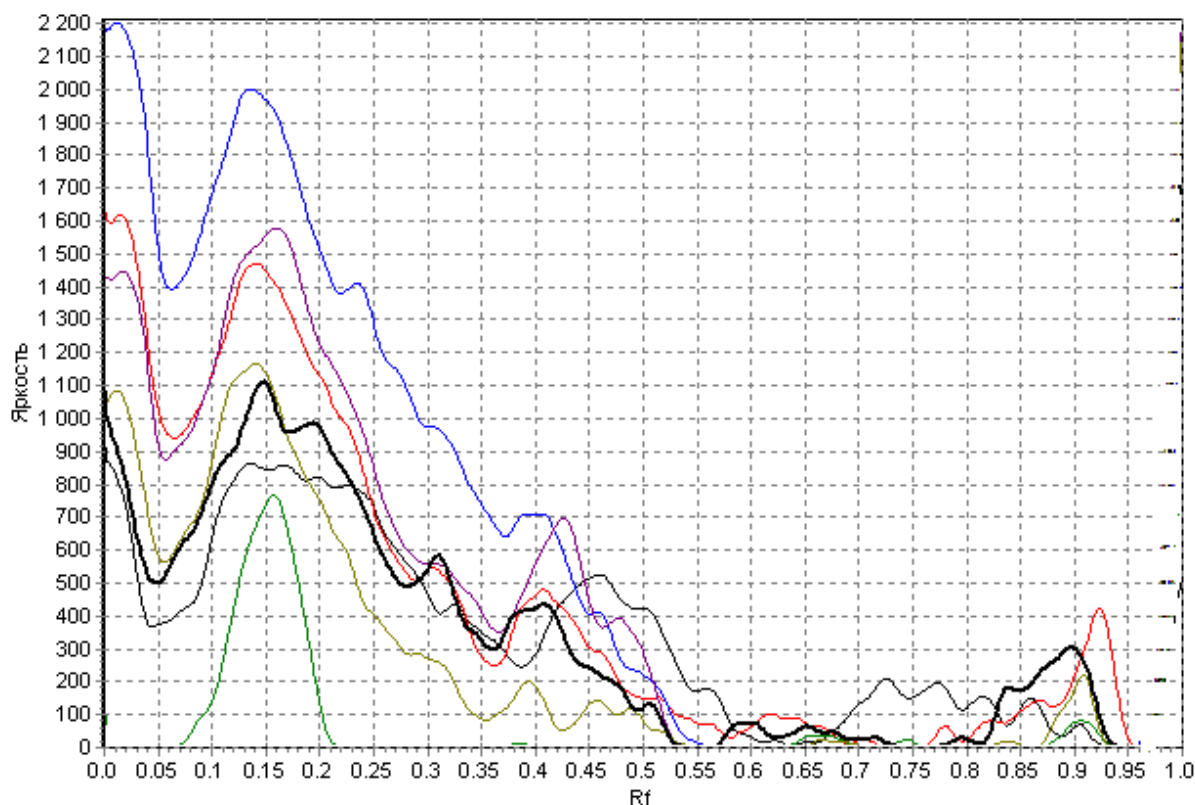


Рисунок 4.2.1.6. Денситограмма листьев боярышника кроваво-красного с хроматограммы «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ» при 254 нм, собранного в районах РБ в различные годы заготовки (Синяя линия - листья БК Дув.район 2009 г.з., фиол.линия - листья БК Чишм.район 2011г.з., красная линия - листья БК Мелеуз .район 2011г.з., ж.-зел.линия - листья БК Дув.район 2010 г.з., черная линия - листья БК Чишм.район 2010 г.з., серая линия - листья БК Уфимский район 2010 г.з., зеленая линия - гиперозид).

Проведена количественная оценка обнаруженных флавоноидов - рутина и гиперозида, так как именно они являются приоритетными маркерами при анализе различных видов сырья боярышника согласно нормативной документации России и других стран [55, 57, 286, 302, 372]. Количественную обработку пятен проводили на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-В-УФ» по площади пика.

Согласно полученным данным, содержание рутина в одной серии анализируемой пробы листьев боярышника составило в среднем 0,5%, а гиперозида - 1,9%. При сравнении полученных данных со спектрофотометрическим определением флавоноидов в пересчете на данные соединения - содержание их составило - 2,4% и 2,3% соответственно. Следовательно, можно сказать, что основная доля в сумме флавоноидов приходится на гиперозид.

С использованием данной методики были проанализированы на содержание гиперозида и рутина пять серий листьев боярышника кроваво-красного, заготовленных в различных районах Башкортостана (рисунок 4.2.1.7 и 4.2.1.8).

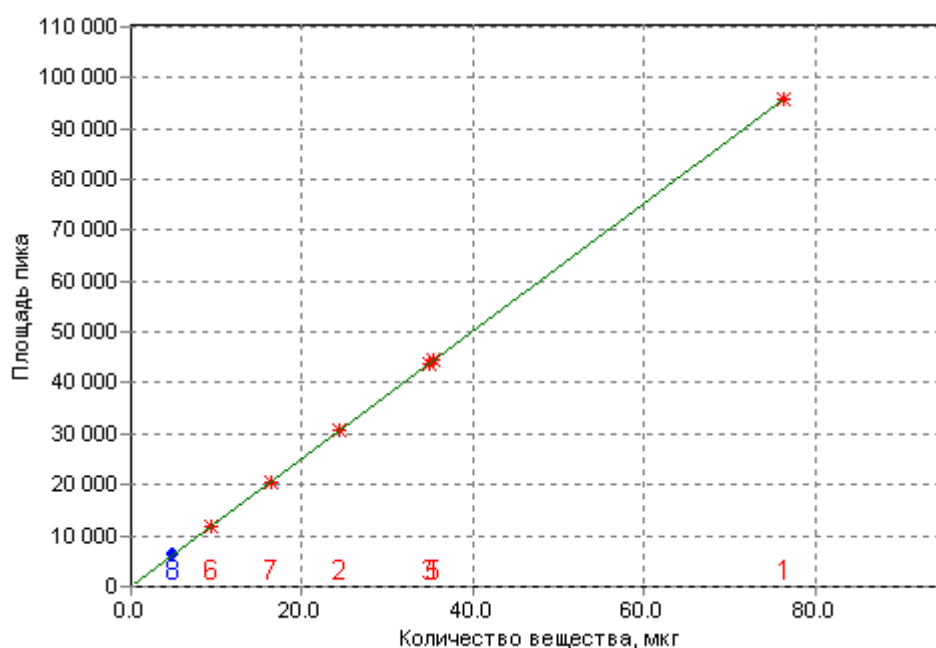


Рисунок 4.2.2.7. График расчета гиперозида от площади пика

Таблица 4.2.1.2 - Результаты расчета концентрации гиперозида

Номер трека	Стандарт/Проба	Концентрация	Rf
2	Проба	4,9±0,5%	0,16
3	Проба	5,0±0,5%	0,16
5	Проба	5,1±0,4%	0,16
6	Проба	1,9±0,2%	0,16
7	Проба	3,3±0,3%	0,16
8	Гиперозид	0,05%	0,16

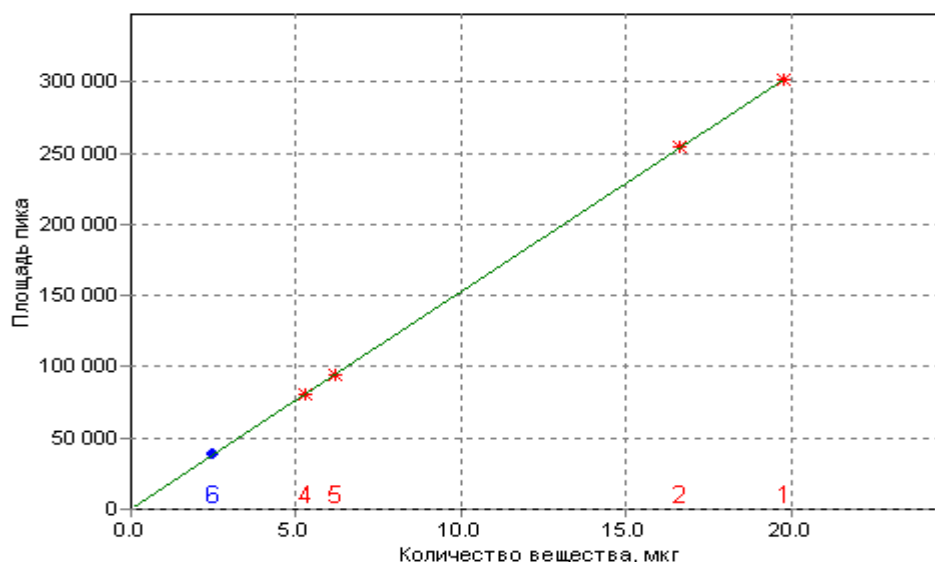


Рисунок 4.2.1.8. График расчета рутина от площади пика

Таблица 4.2.1.3 - Результаты расчета концентрации рутина

Номер трека	Стандарт/Проба	Концентрация	Rf
1	Проба	0,49±0,04	0,04
2	Проба	0,33±0,03	0,04
4	Проба	0,11±0,01	0,04
5	Проба	0,12±0,01	0,04
6	Рутин	0,05%	0,04

Так, согласно полученным данным (таблица 4.2.1.2 и 4.2.1.3) содержание рутина в различных сериях листьев боярышника кроваво-красного варьировало от 0,11 % до 0,49 %, а гиперозида - от 1,9 % до 5,1 %.

Также нами проведена сравнительная качественная и количественная характеристика различных видов сырья боярышника - цветков, плодов и листьев (рисунок 4.2.1.9). Извлечения из цветков и плодов получали так же, как и из листьев с использованием 80% этилового спирта в соотношении 1:10.

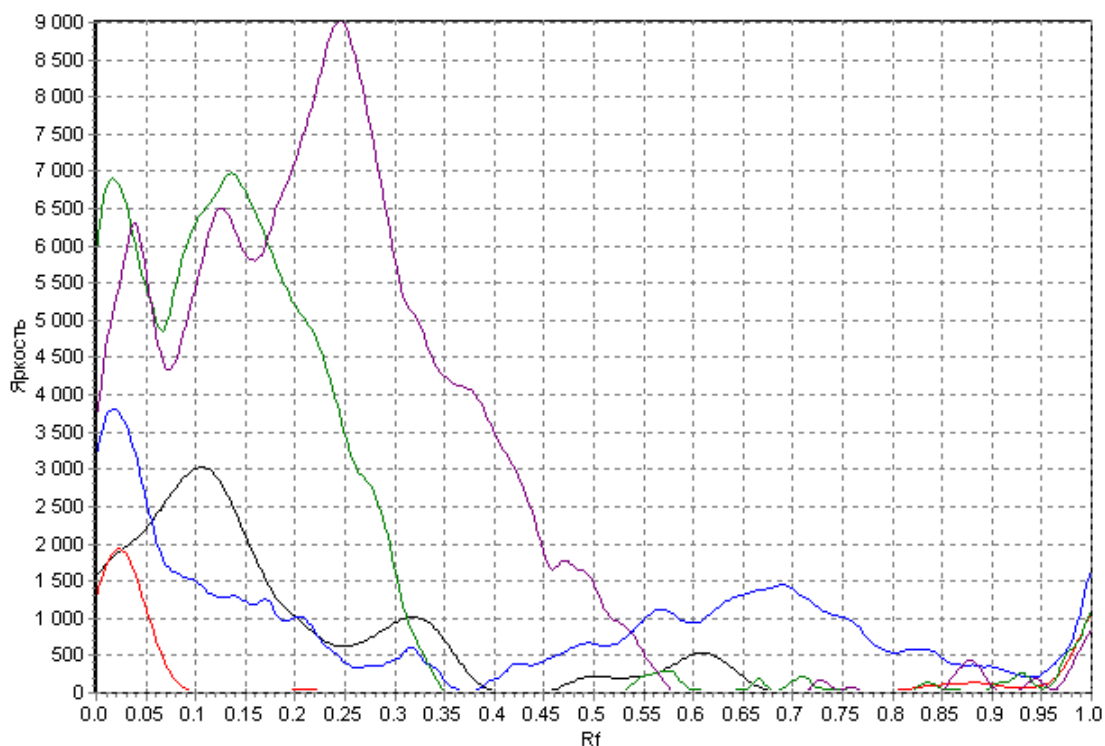


Рисунок 4.2.1.9. Сравнительная денситограмма плодов, цветков и плодов боярышника кроваво-красного при 254 нм (фиолетовая линия - листья, зеленая линия - цветки, синяя линия - плоды, красная линия - рутин, черная линия - гиперозид).

Из результатов, представленных на денситограмме (рисунок 4.2.1.9) видно, что во всех трех видах сырья боярышника содержится рутин и гиперозид, а в цветках гиперозид является доминирующим флавоноидом. Следовательно, по денситограмме можно судить о содержании того или иного вещества в сырье. Из приведенной денситограммы видно, что накопление гиперозида и рутина максимально в цветках, затем в листьях и минимально - в плодах. После проведенной количественной оценки хроматоденситометрическим методом мы подтвердили эти предположения (рисунок 4.2.1.10 и 4.2.1.11 и таблица 4.2.1.4 и 4.2.1.5).

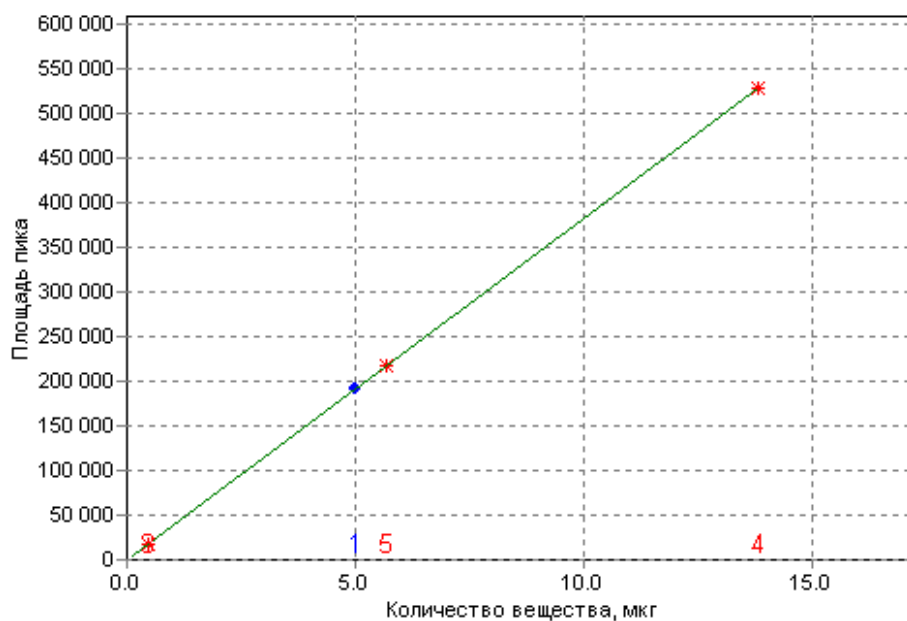


Рисунок 4.2.1.10. График расчета гиперозида от площади пика

Таблица 4.2.1.4 - Результаты расчета концентрации гиперозида

Номер трека	Стандарт/Проба	Концентрация	Rf
1	Гиперозид	0,05%	0,16
3	Плоды	0.09±0,01%	0,16
4	Цветки	2,76±0,25%	0,16
5	Листья	1,13±0,11%	0,16

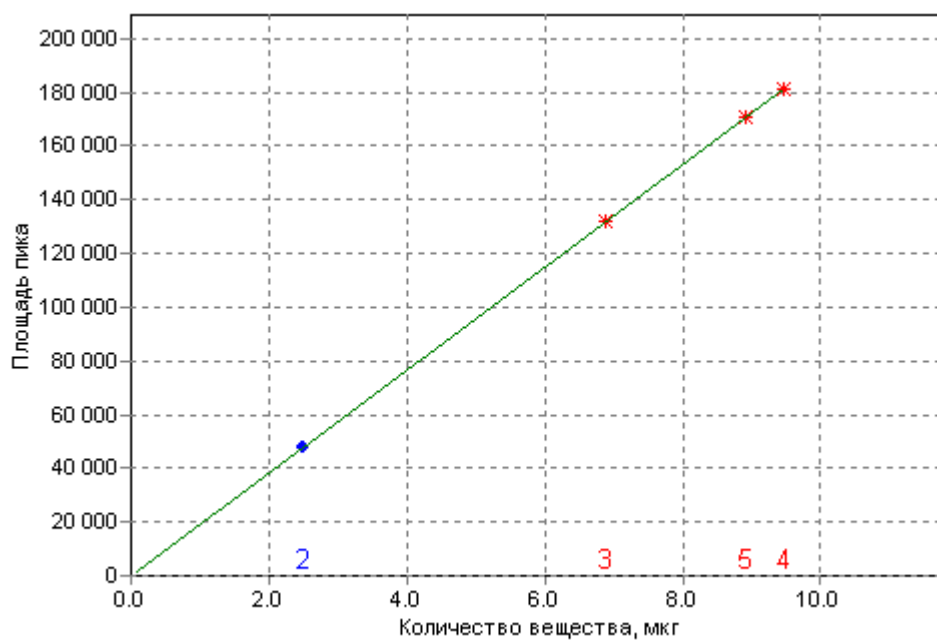


Рисунок 4.2.1.11. График расчета рутина от площади пика

Таблица 4.2.1.5 - Результаты расчета концентрации рутина

Номер трека	Стандарт/Проба	Концентрация	Rf
2	Рутин	0,05%	0,04
3	Плоды	0,14±0,01	0,04
4	Цветки	0,19±0,02	0,04
5	Листья	0,18±0,02	0,04

На примере проведенных исследований показана возможность экспрессного качественного и количественного анализа растительного сырья методом ВЭТСХ с последующей количественной оценкой полученных зон с использованием сканирующей денситометрии. Методика позволяет использовать только одно извлечение (зачастую для качественного анализа получают одно извлечение, а для количественного - другое) и сочетать определение подлинности ЛРС методом ТСХ с последующим сканированием зон компонентов на хроматографических пластинках и их количественной оценкой. Хроматоденситометрический метод также позволяет определить соотношение индивидуальных веществ в анализируемых объектах. Поэтому, в настоящее время возможности использования денситометров расширяются, чувствительность и точность определения концентрации разделенных веществ повышается и приближается к точности высокоэффективной жидкостной хроматографии.

ВЭЖХ исследования

Анализ суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в хроматографической системе WatersBreeze (Waters, США) со спектрофотометрическим детектором (глава 2, п.2.2.3.1.).

При проведении анализа извлечения из листьев боярышника кроваво-красного, полученного с использованием 70% этилового спирта, обнаружено 18 соединений (рисунок 4.2.1.12), из которых идентифицированы при сопоставлении времени удерживания пиков веществ на хроматограммах анализируемых образцов со временами удерживания пиков стандартных образцов следующие флаво-

ноиды: флавонолгликозид рутин (1), а также агликоны: байкалеин (3), физетин (4), дигидрокверцетин (2), кверцетин (5).

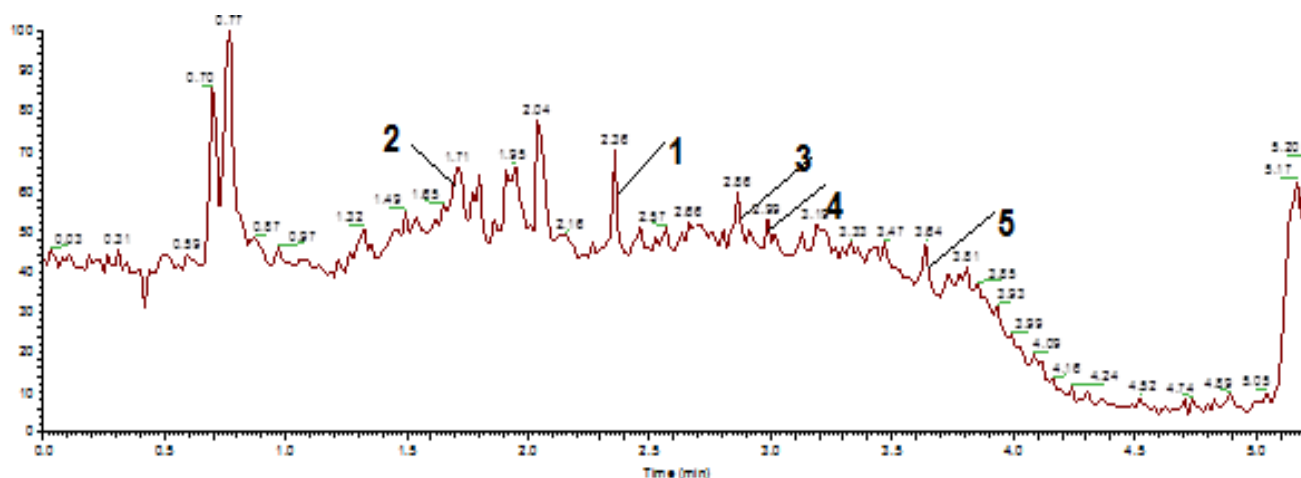


Рисунок 4.2.1.12. Хроматограмма 70% спиртового извлечения из листьев *C. sanguinea*

При сравнении содержания идентифицированных флавоноидов пробе, оказалось, что доминирующим является рутин (2,75%), затем - дигидрокверцетин (1,07%), байкалеин (0,82%), физетин (0,8%) и кверцетин (0,26%) [221].

ГХ/МС исследования

Исследование извлечения, полученного из листьев боярышника кроваво-красного с использованием 95% этилового спирта, проводили методом газовой хроматографии масс-спектрометрии (ГХ/МС). Приготовленные пробы анализировали с использованием газового хроматографа «Agilent» (США) модели 6890 N с масс-селективным детектором модели 5973 (глава 2, п.2.2.3.1.)

При анализе извлечения листьев боярышника кроваво-красного обнаружено 31 соединение (рисунок 4.2.1.13), из которых идентифицированы по сравнению с библиотечными масс-спектрами 6 веществ, из них 4 - фенольной природы: кумаран, α -гидрохинон, пирокатехин и хинная кислота (таблица 4.2.1.6).

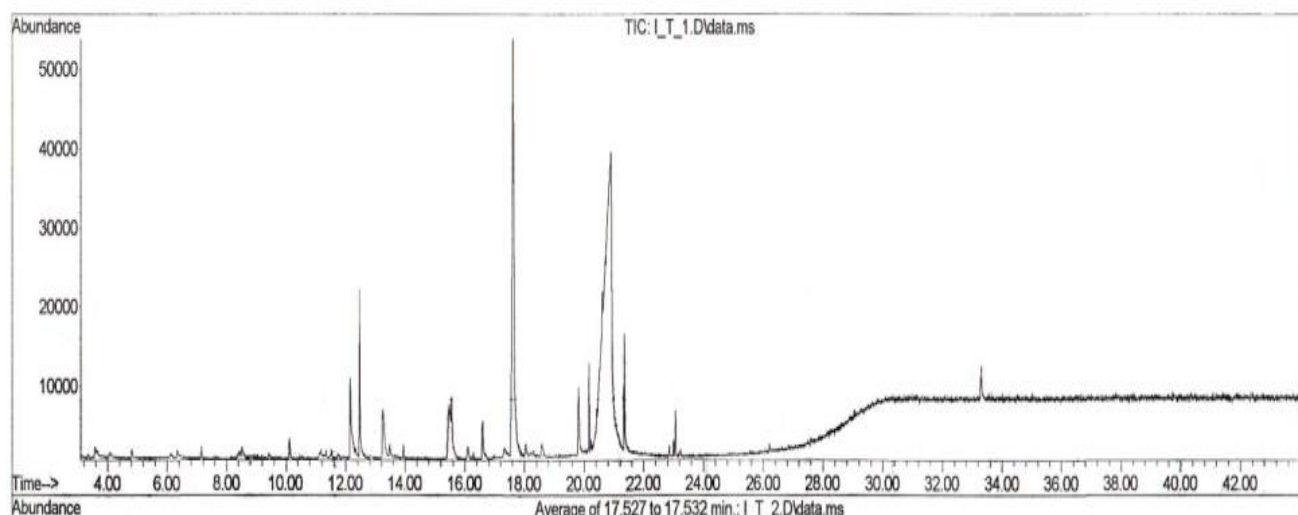


Рисунок 4.2.1.13. ГХ/МС-хроматограмма спиртового извлечения листьев боярышника кроваво-красного

Таблица 4.2.1.6 - Результаты хромото-масс-спектрометрического анализа спиртового извлечения листьев боярышника кроваво-красного

Соединение	Время удерживания, мин	Содержание в пробе, %
2,3-дигидро-бензофуран (кумаран)	12,472	1,21
1,4 - бензендиол (α -гидрохинон)	13,245	2,14
1,2 - бензендиол (пирокатехин)	12,151	0,96
1,3,4,5 - тетрагидрокси-циклогексанкарбоновая кислота (хинная кислота)	17,613	1,45

Для исследования липофильных веществ листьев боярышника кроваво-красного были получены липофильные фракции с использованием хлороформа и гексана. Полученные извлечения исследовали методом ГХ/МС (глава 2, п.2.2.3.1.). Полученные липофильные фракции представляли собой смолистые жидкости темно-зеленого цвета и зеленого цвета с характерным запахом, нерастворимые в воде, малорастворимые в спирте, растворимые в хлороформе и гексане. В среднем выход липофильной фракции составил от $1,5 \pm 0,07$ % до $2,3 \pm 0,09$ %. В результате анализа полученных данных ГХ/МС в хлороформном извлечении было обнаружено 32 соединения, из которых идентифицированы по сравнению с библиотечными масс-спектрами 12 веществ (рисунок 4.2.1.14). В гекса-

новом извлечении было обнаружено 40 соединений, из которых идентифицированы по сравнению с библиотечными масс-спектрами 7 веществ (рисунок 4.2.1.15).

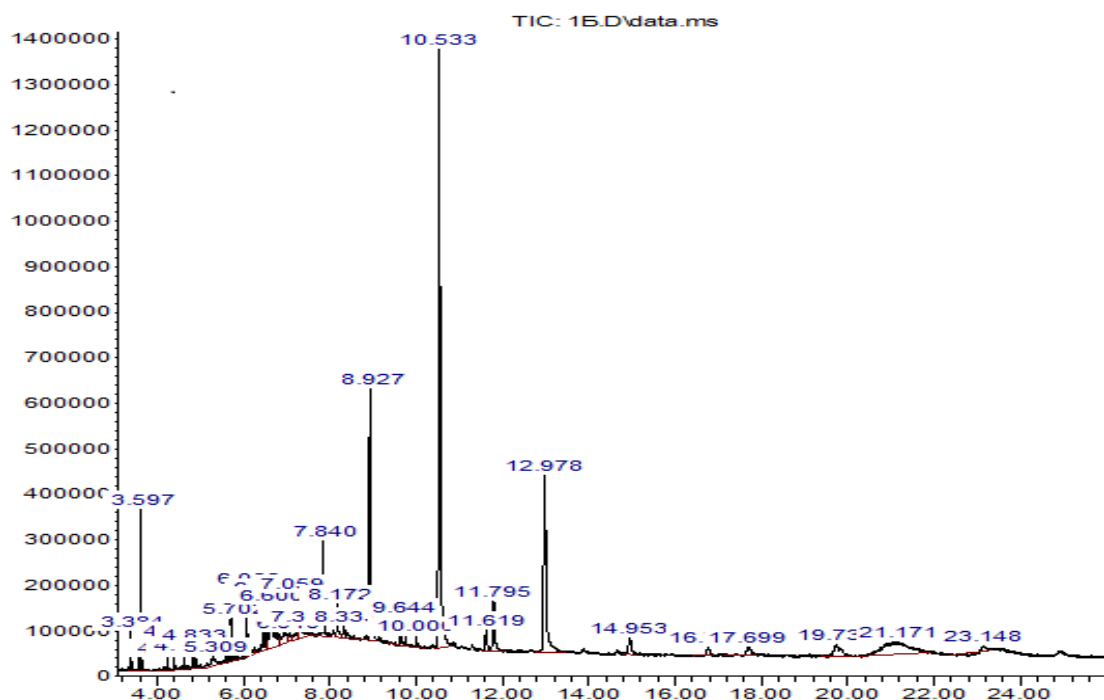


Рисунок 4.2.1.14. Хроматограмма хлороформного извлечения листьев боярышника кроваво-красного

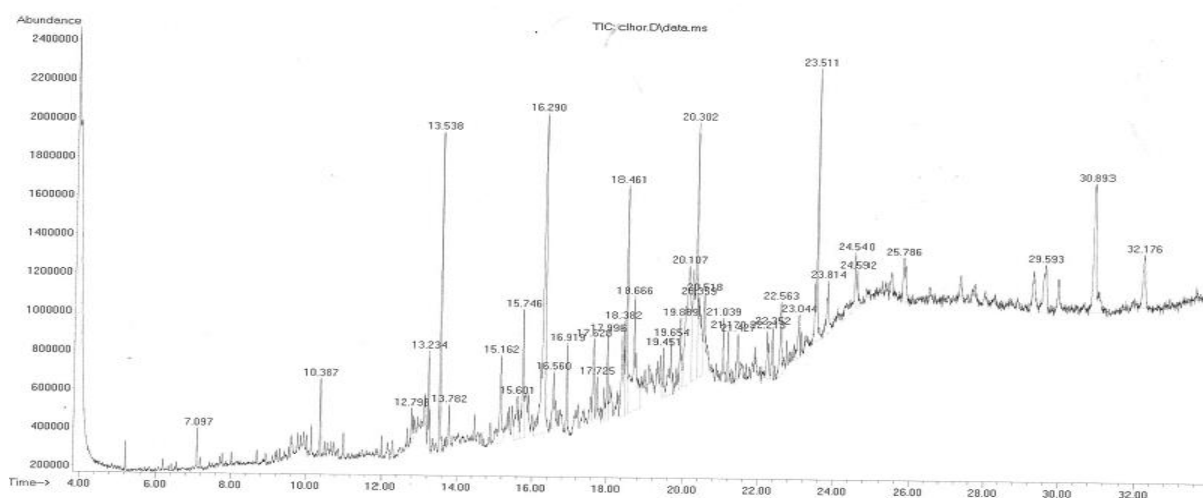


Рисунок 4.2.1.15. Хроматограмма гексанового извлечения листьев боярышника кроваво-красного

Из результатов, представленных в таблице 4.2.1.7 и 4.2.1.8 видно, что липофильная фракция листьев боярышника кроваво-красного содержит монотерпеноиды (транс-дигидрокарвон и карвон), сесквитерпеноиды (транс-кариофиллен,

гермакрен), производные бензофурана (2(4Н)-бензофуранон), насыщенные и ненасыщенные углеводороды (п-эйкозан, альфа-октадецилен), ароматические карбоновые кислоты (фталевая кислота), 9 жирных кислот, из которых 5 насыщенных (пальмитиновая, стеариновая, генейкозановая, бегеновая, лигноцериновая) и 4 ненасыщенных (арахидоновая, олеиновая, линолевая, эйкозеновая) и их производные (этиловый эфир пальмитиновой кислоты, линолеиловый спирт). Высшие жирные кислоты являются преобладающей группой биологически активных веществ в липофильной фракции листьев боярышника кроваво-красного. Доминирующими среди них являются лигноцериновая (29,12%), арахидоновая (13,37%) и линолевая (7,61%) [240].

Таблица 4.2.1.7 - Результаты хромато-масс-спектрометрического анализа липофильной фракции листьев боярышника кроваво-красного в хлороформном извлечении

Соединение	Время удерживания, мин	Содержание в пробе, %
Транс-дигидрокарвон	3,382	0,73
Карвон	3,597	2,56
Транс-кариофиллен	4.384	0,54
Гермакрен	4,616	0,41
2(4Н)-бензофуранон	4,834	0,76
Пальмитиновая кислота	6,063	2,19
Генейкозановая кислота	6.435	2,57
Арахидоновая кислота	12,978	13,37
Стеариновая кислота	7.84	2,94
Бегеновая кислота	8,927	8,88
Лигноцериновая кислота	10,533	29,12

Альфа-октадецилен	11,796	5,15

Таблица 4.2.1.8 - Результаты хромато-масс-спектрометрического анализа липофильной фракции листьев боярышника кроваво-красного в гексановом извлечении

Соединение	Время удерживания, мин	Содержание в пробе, %
п-Эйкозан	12,792	0,99
Этиловый эфир пальмитиновой кислоты	18,664	5,71
Линолевая кислота	19,453	7,61
Олеиновая кислота	20,358	3,66
Линолеиловый спирт	21,528	1,58
Фталевая кислота	23,509	4,8
Эйкозеновая кислота	23,816	1,67

При изучении химического состава листьев боярышника кроваво-красного, получая экстракционные комплексы биологически активных веществ с различной полярностью, мы обратили внимание, что водное извлечение из листьев боярышника кроваво-красного представляет собой опалесцирующую слизистую жидкость, плохо фильтрующуюся, что косвенно указывает на наличие большого количества полисахаридов. Биологически активные растительные полисахариды применяются в медицинской практике для профилактики и лечения ряда заболеваний различной этиологии. Полисахариды являются потенциальными модификаторами биохимических реакций, обладают иммуностимулирующими, антимикробными, противовоспалительными, противоязвенными, противоопухолевыми, противовирусными, обволакивающими и отхаркивающими свойствами [110, 377, 382]. При проведении литературного анализа химического состава боярышников наше внимание привлек тот факт, что из *Crataegus pinnatifida* Bunge были выде-

лены пектины и исследовано их влияние на ферментную систему мышей, получающих жирную пищу. Авторами данных исследований сделаны выводы о возможности использования пектинов *Crataegus pinnatifida* Bunge в диетотерапии для профилактики ожирения и сердечно-сосудистых заболеваний [326]. В то же время, в доступной литературе данных о содержании и характеристике полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного не представлено. В связи с этим проведено выделение полисахаридного комплекса из листьев боярышника кроваво-красного, разделение его на фракции с количественным определением каждой группы, а так же исследование мономерного состава и молекулярно-массового распределения полисахаридов хроматографическими методами. Для хроматографического исследования полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного были получены фракции согласно методикам, представленным в главе 2., п.2.2.3.1. Результаты выхода полученных фракций (водорастворимых полисахаридов (ВРПС) и пектиновых веществ (ПВ), содержания в них уроновых кислот и белковых примесей согласно методикам, приведенным в главе 2, п.2.2.3.2, приведено в таблице 4.2.1.9.

Таблица 4.2.1.9 - Содержание белков и уроновых кислот в ВРПС и ПВ из листьев боярышника кроваво-красного

№	Фракция полисахаридов	Выход фракции, %	Содержание уроновых кислот, %	Содержание белка, %
1.	ВРПС	1.7±0.1	17.7±0.2	9.0±0.1
2.	ПВ	12.2±0.5	34.3±0.5	1.4±0.1

Согласно полученным данным (таблица 4.2.1.9), преобладающими полисахаридами в листьях боярышника кроваво-красного являются пектиновые вещества. Фракция ВРПС содержит достаточно высокое количество примесей белковых соединений, что необходимо учитывать в дальнейших исследованиях, связанных с выделением и очисткой полисахаридов из лекарственного растительного сырья. По данным литературы значительное содержание уроновых кислот в поли-

сахаридном комплексе (в ВРПС - $17.7 \pm 0.2\%$, в ПВ - $34.3 \pm 0.5\%$) может обуславливать терапевтический эффект, связанный с противовоспалительной и антимикробной активностью [206, 211].

Моносахаридный состав фракций полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного устанавливали после предварительного гидролиза 4 М кислотой трифторуксусной (глава 2, п.2.2.3.1.). Моносахариды идентифицировали методом ГХ/МС в виде соответствующих триметилсилильных производных моносахаридов. Для получения триметилсилильных производных к остатку моносахаридов, полученному после кислотного гидролиза, добавляли безводный пиридин (100 мкл) и N-триметилсилилимидазол (30 мкл), закрывали плотно крышкой и оставляли на 25 минут в сушильном шкафу (75°C), потом охлаждали и добавляли по 1 мл гексана, перемешивали и верхний слой отбирали на ГХ-анализ. Разделение силилированных образцов проводили методом ГХ/МС согласно главе 2., п.2.2.3.1.

Состав моносахаридов в полученных фракциях предварительно определяли после кислотного гидролиза методом хроматографии на бумаге в системе растворителей этилацетат - уксусная кислота - муравьиная кислота - вода (18:3:1:4) и ТСХ в системе растворителей бутанол - ацетон - вода (4:5:1) с достоверными образцами моносахаридов. Хроматограммы после высушивания на воздухе обрабатывали анилинфталатным реактивом и нагревали в сушильном шкафу при температуре $100-105^{\circ}\text{C}$. Моносахариды проявлялись в виде красновато-коричневых пятен. Во всех полисахаридных фракциях были обнаружены глюкоза, арабиноза, галактоза, рамноза.

После предварительных исследований методом тонкослойной хроматографии мономерный состав полисахаридов изучали с использованием метода ГХ-МС полученных триметилсилильных производных (рисунок 4.2.1.16 и 4.2.1.17).

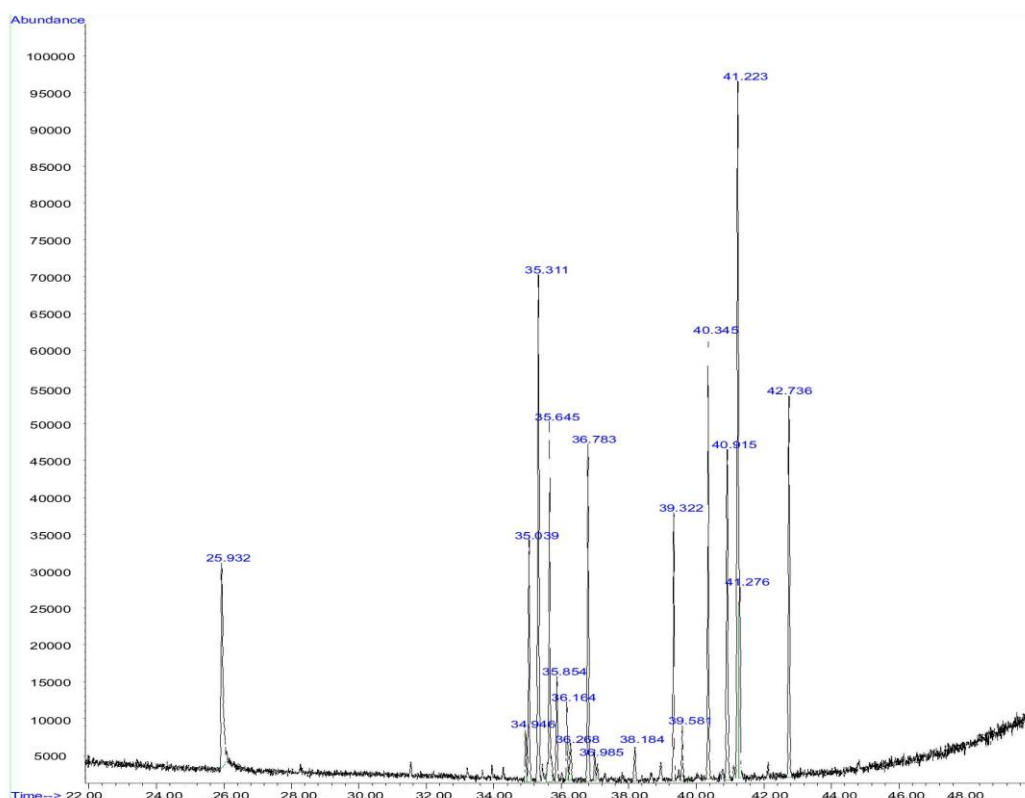


Рисунок 4.2.1.16. Хроматограмма моносахаридов ВРПС листьев боярышника кроваво-красного

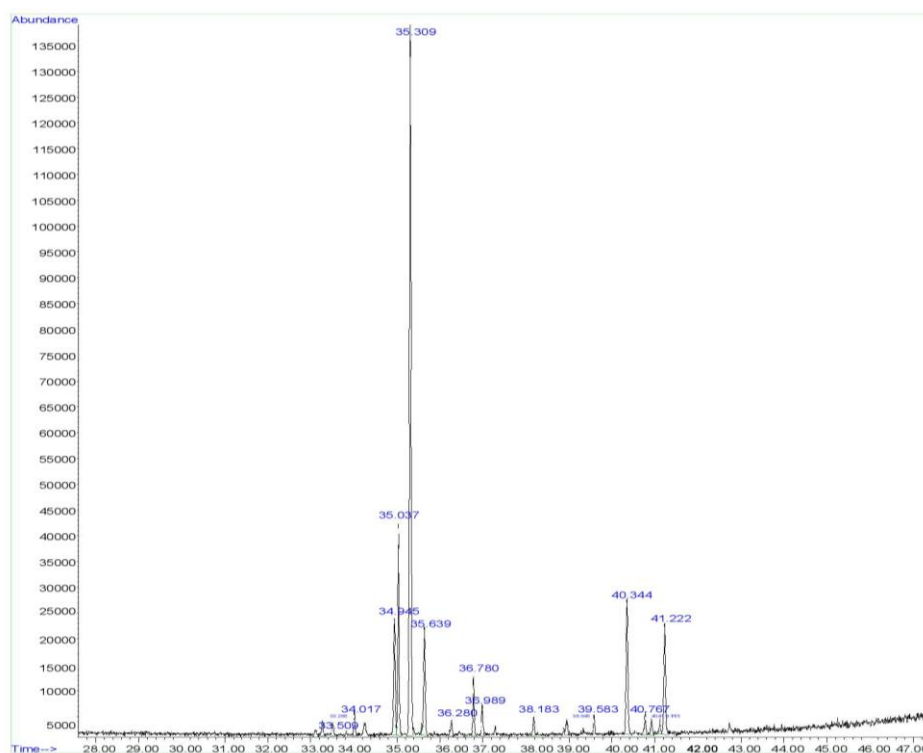


Рисунок 4.2.1.17. Хроматограмма моносахаридов ПВ листьев боярышника кроваво-красного

По совпадениям с библиотечными масс-спектрами идентифицировано шесть моносахаридов во фракции ВРПС и четыре моносахарида во фракции ПВ (таблица 4.2.1.10).

Таблица 4.2.1.10 - Мономерный состав ВРПС и ПВ листьев боярышника кроваво-красного (результаты ГХ-МС)

Фракция Полисахаридов	Глюкоза, %	Галактоза, %	Ксилоза, %	Арабиноза, %	Манноза, %	Галактуроно- вая кислота, %
ВРПС	16.7±0.8	36.0±1.2	1.5±0.1	10.9±0.3	12.6±0.3	22.6±0.9
ПВ	1.6±0.1	11.1±0.5	-	20.3±0.8	-	67.0±2.5

Согласно полученным данным, полисахаридный комплекс ВРПС в качестве макрокомпонентов содержит галактозу, глюкозу, арабинозу, маннозу и галактуроновую кислоту, а ПВ - арабинозу, галактозу и галактуроновую кислоту.

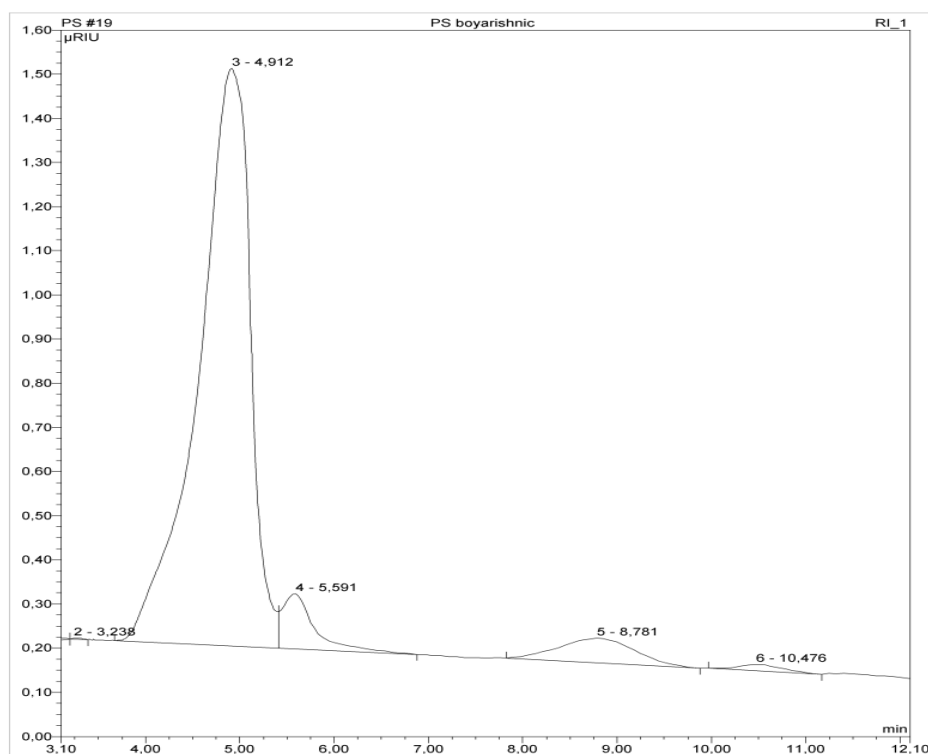


Рисунок 4.2.1.18. ВЭЖХ-грамма ВРПС листьев боярышника кроваво-красного

Анализ молекулярно-массового распределения методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (глава 2., п. 2.2.3.1.) показал, что комплекс

ВРПС листьев боярышника кроваво-красного имеет широкое распределение полисахаридов по молекулярной массе 1.2×10^3 кДа (основная фракция - 61%), 21 кДа (14%) и 9.5 кДа (24%) (рисунок 4.2.1.18).

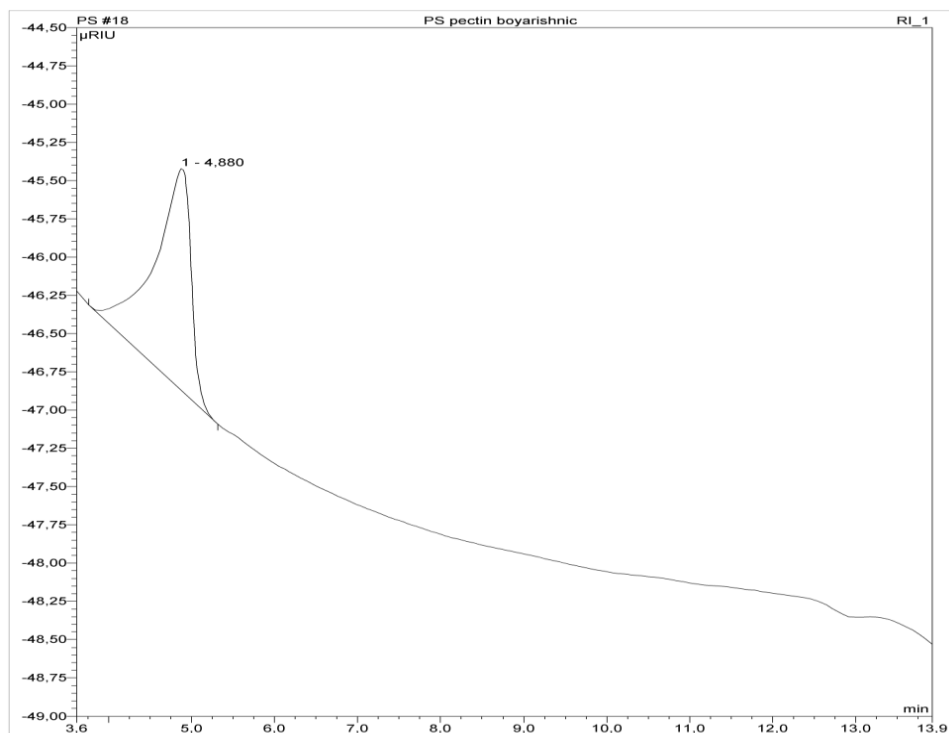


Рисунок 4.2.1.19. ВЭЖХ-грамма ВРПС листьев боярышника кроваво-красного

При исследовании ВЭЖХ-граммы ПВ листьев боярышника кроваво - красного было установлено, пектиновые вещества имеют узкое молекулярное распределение - на хроматограмме детектируется только 1 пик со временем удерживания 4,880 мин, соответствующий полиуронану с молекулярной массой 1.1×10^3 кДа (рисунок 4.2.1.19) [244].

При исследовании анатомо-диагностических признаков листьев боярышника кроваво-красного обнаружено, что при обработке микропрепарата суданом III, клетки эпидермиса в месте прикрепления простого волоска и эпидермис вдоль жилок прилистника окрашиваются в оранжевый цвет (глава 4, п.4.1.). Данный факт и наличие многоклеточных железок с бурым содержимым косвенно указывает на содержание эфирного масла. Также в современной литературе имеются сведения о том, что выявлена антитромботическая активность *in vitro* на модели агрегации тромбоцитов в плазме крови крыс сесквитерпена, выделенного из *Cra-*

taegus pinnatifida Bunge - (1 α ,4 α ,8 α)-1-изопропанол-4 α -метил-8-метилен-декаидронафталена [383].

Эфирное масло из листьев боярышника кроваво-красного получено методом гидродистилляции (метод 1) по ГФ XI издания. Содержание его составило в среднем 0,43 $\pm$ 0,02%. При хромато-масс-спектрометрическом исследовании эфирного масла обнаружено 44 соединения (рисунок 4.2.1.20).

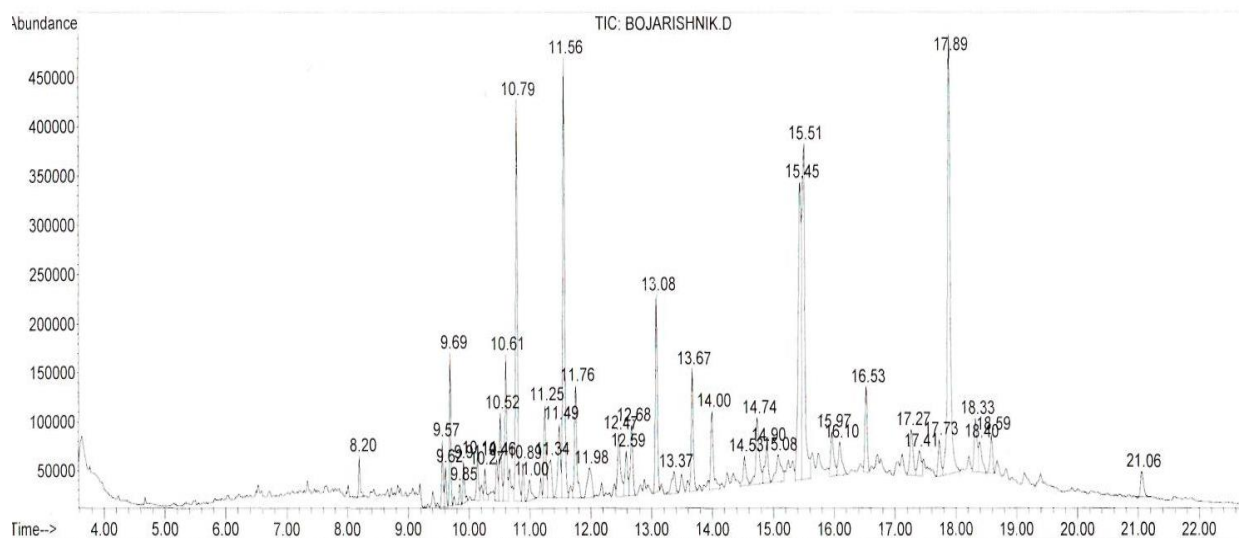


Рисунок 4.2.1.20. Хроматограмма эфирного масла боярышника кроваво-красного

По совпадению с библиотечными масс-спектрами в эфирном масле идентифицировано 18 соединений (таблица 4.2.1.11).

Таблица 4.2.1.11 - Компонентный состав эфирного масла листьев боярышника кроваво-красного

№	Вещество	R _b , мин	Содержание, %
1.	2,4-декадиеналь (E, E)	8.20	0.59
2.	4-(2,6,6-триметил-1-циклогексен-1-ил)-3-бутен-2-он	9.57	1.02
3.	α -фарнезен	9.70	2.01
4.	Додекановая кислота	10.14	0.89
5.	3,7,11-триметил-1,6,10-додекатриен	10.27	0.60
6.	Ледол	10.79	7.17
7.	1,2,3,4,4 α ,5,6,7-октагидро-4 α ,8-тетраметил-2-нафталинметанол	11.25	1.85
8.	α -кадинол	11.49	1.87
9.	1-этилиденоктагидро-7 α -метил-1H-инден	11.56	8.34

10.	Тетрадекановая кислота	12.46	1.88
11.	Изопропил миристат	13.38	0.83
12.	6,10,14-триметил-2-пентадеканон	13.67	2.43
13.	Метилловый эфир гексадекановой кислоты	14.90	1.27
14.	Н-гексадекановая кислота	15.51	9.64
15.	Этиловый эфир гексадекановой кислоты	15.97	1.38
16.	3,7,11,15-тетраметил-1,6,10,14-гексатетраен-3-ол	16.53	1.89
17.	Фитол	17.89	12.35
18.	9,12,15-октадекатриеновая кислота	18.33	1.56

Согласно данным таблицы 4.2.1.11, основными компонентами эфирного масла листьев *Crataegus sanguinea* Pall., произрастающего в Республике Башкортостан, являются соединения сесквитерпеновой природы (1-этилиденоктагидро-7а-метил-1Н-инден (8.34%), ледол (7.17%), α -фарнезен (2,01%), α -кадиол (1,87%). Суммарная доля базовых компонентов в масле составила 37.5%. Масло также содержит 9 компонентов с концентрациями выше 1%, что от общего числа компонентов составляет 17.16%.

4.2.2. Выделение и идентификация биологически активных веществ из листьев боярышника кроваво-красного

Выделение биологически активных веществ из листьев боярышника кроваво-красного проводили с использованием колоночной хроматографии (глава 2, п. 2.2.3.1.). В качестве сорбентов использовались оксид алюминия, силикагель и полиамид. Оксид алюминия для выделения фенольных соединений не подошел, так как оксид алюминия прореагировал с ними с образованием окрашенных соединений (ярко-оранжевых и ярко-желтых). Два вещества, выделенных из колонки с оксидом алюминия, согласно полученным УФ-спектрам, были идентифицированы как растительные пигменты: хлорофилл *a* и β -каротин (рисунок 4.2.2.1 и 4.2.2.2.).

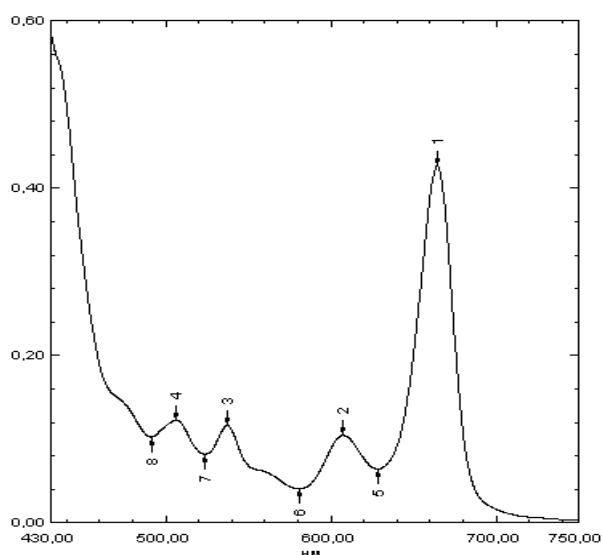


Рисунок 4.2.2.1. УФ-спектр выделенного хлорофилла *a*

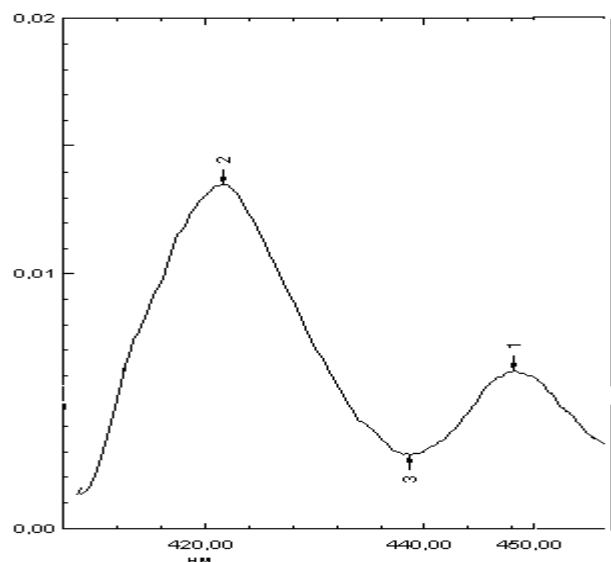


Рисунок 4.2.2.2.УФ-спектр выделенного β-каротина

При использовании колонок с силикагелем и полиамидом в результате разделения извлечения листьев боярышника кроваво-красного, полученного на 70% этиловом спирте, выделено 53 вещества (20 – на силикагеле и 33 – на полиамиде). Для установления структуры веществ с использованием ЯМР- и ИК-спектроскопии необходимо было выделить соединения в достаточном количестве для проведения необходимых исследований (не менее 20 мг). Кроме того, они должны были быть без примесей других сопутствующих соединений. В достаточном количестве смогли получить 17 веществ. Очистку проводили путем перекристаллизации из метилового и этилового спирта.

Структуру соединений определяли методами УФ- и ИК- и ЯМР-спектроскопии, ТСХ в сравнении с достоверно известными образцами, определением температуры плавления и использованием реакции комплексообразования с хлоридом алюминия.

Идентификация выделенных соединений

Вещество 1 представляет собой кристаллический порошок желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: $\lambda_{\max}$ (EtOH)_{nm}: 271,

332; +AlCl₃/HCl: 279, 304, 396; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3003, 2930 и 2850 см⁻¹, что соответствует валентным колебаниям С-Н связей, при 1578 см⁻¹, что соответствует валентным колебаниям -С = С- ароматического цикла, полосы при 1335 см⁻¹ - валентным колебаниям С-О, 3400 см⁻¹ - валентным колебаниям фенольной-ОН, 1050, 1013, 924 см⁻¹ - полосы деформационных колебаний -С-Н- замещенного бензольного кольца и 1640 см⁻¹ - валентным колебаниям С = О g-пирона, 1413 см⁻¹ - деформационным колебаниям С-Н₂, 3400-3300 см⁻¹ - валентным колебаниям гидроксигрупп, 587-650 см⁻¹ - валентным колебаниям пиранозного цикла (рисунок 4.2.2.3 и 4.2.2.4).

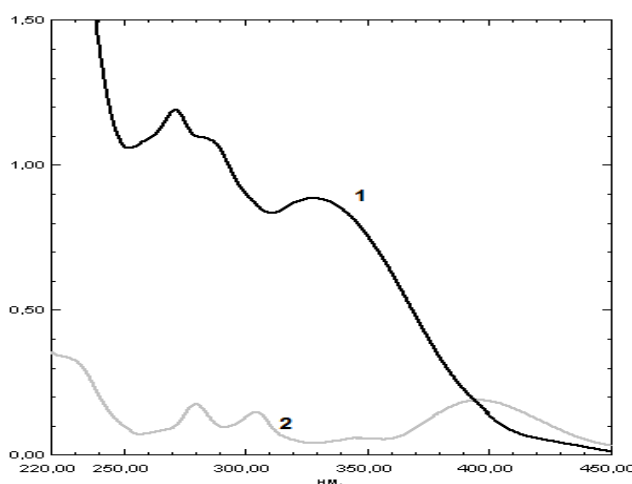


Рисунок 4.2.2.3. УФ-спектр выделенного витексина (1) и витексина + AlCl₃/HCl(2)

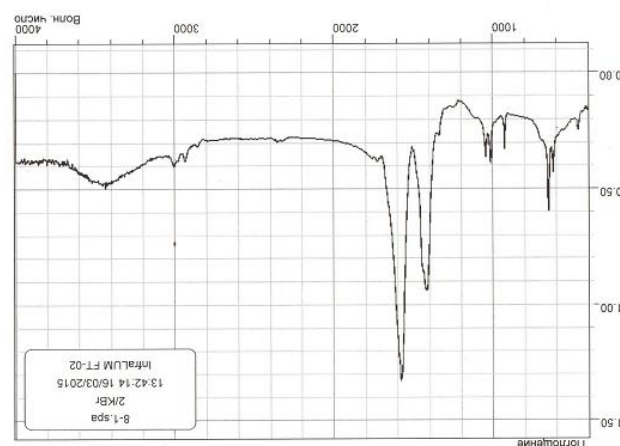


Рисунок 4.2.2.4. ИК-спектр выделенного витексина

В ЯМР- ¹H-спектре в ДМСО-₆ вещества 1 в ДМСО-*d*₆ регистрируются два дублета при 3,21 (1H, С⁶H_А – глюкоза, 7,3 Гц) и 3,22 (1H, С⁶H_В – глюкоза, 7,3 Гц), и мультиплетный сигнал в интервале 3,7-3,9 (4H, глюкоза), принадлежащие протонам глюкозы, синглет при 4,36 (1H, -ОН) и дублет при 5,01 (2H, -ОН, 9,3 Гц), соответствующий протонам гидроксильных групп глюкозы. Сигналы ароматических протонов регистрируются в виде дублетов при 6,89 (2H, Н^{3'}, Н^{5'} аром., 11Гц), при 8,00 (2H, Н^{2'}, Н^{6'}, аром., 11 Гц), при 6,28 (1H, Н³, 13 Гц), при 7,1 (1H, Н⁶, 4,6 Гц) и в виде синглета при 6,57 (1H, Н⁸). В спектре имеется характерный синглет при 13,08 (1H, 5-ОН), который смещен в слабое поле за счет образования сильно-

сопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пиранового цикла. Остальные фенольные гидроксилы находятся в обмене с примесью воды в ДМСО- d_6 (рисунок 4.2.2.5). $T_{пл}$: 263-265°C.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-спектров (рисунок 4.2.2.6) и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 1* является *витексин*ом.

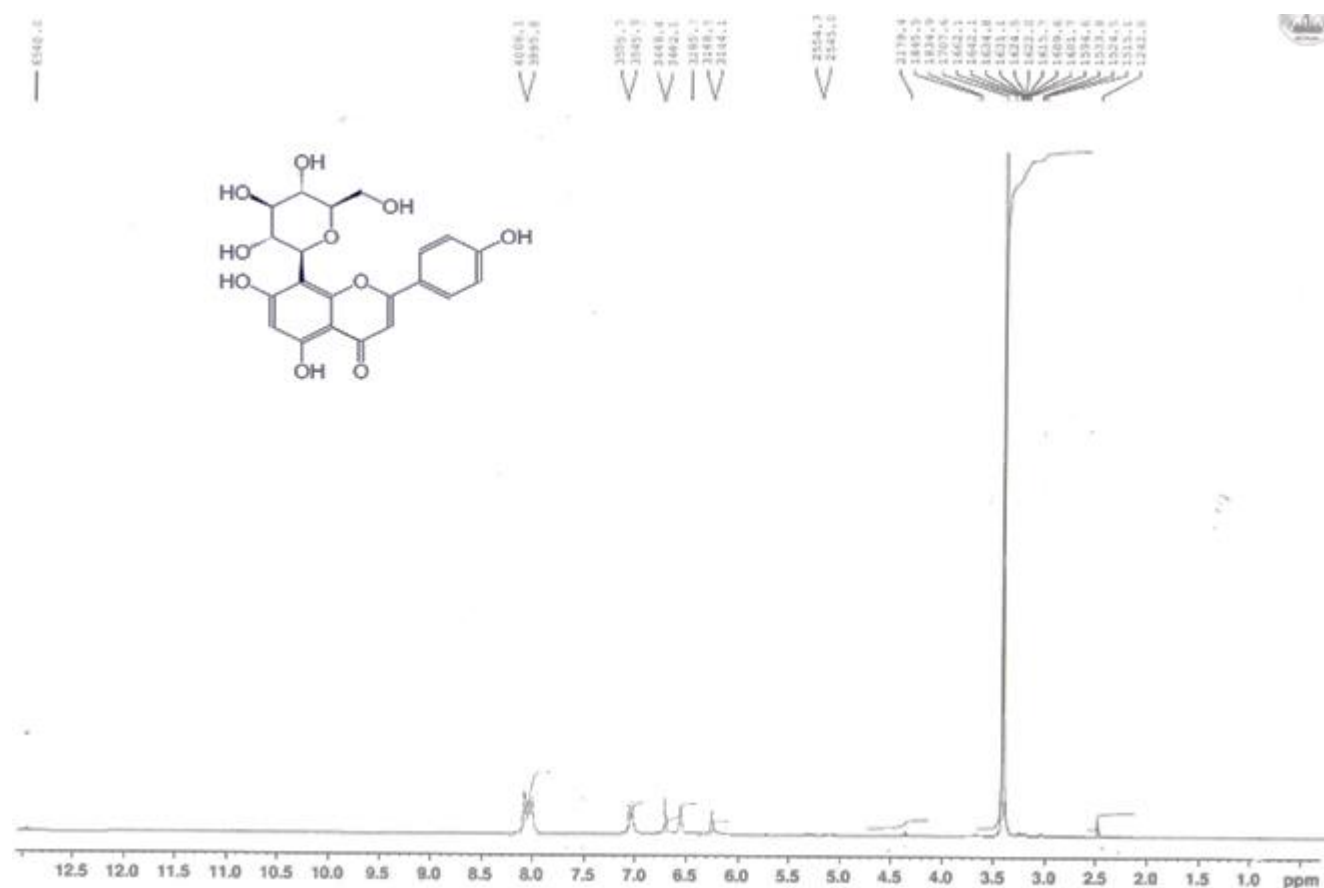


Рисунок 4.2.2.5. ЯМР- ^1H -спектр выделенного витексина

Вещество 2 представляет собой кристаллический порошок желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: $\lambda_{\max}$ (EtOH)нм: 271, 336; + AlCl_3/HCl : 302, 397; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3000, 2933 и 2850 cm^{-1} , что соответствует валентным колебаниям С-Н связей, при 1560 cm^{-1} , что соответствует валентным колебаниям $-\text{C}=\text{C}-$ ароматической системы, полосы при 1360 и 1250 cm^{-1} - валентным колебаниям С-О, 3400 cm^{-1} - валентным колебаниям фенольной-ОН, 1045, 985, 924 cm^{-1} - полосы деформаци-

онных колебаний -С-Н- замещенного бензольного кольца и 1640 см^{-1} - валентным колебаниям $\text{C}=\text{O}$ g-пирона, 1450 см^{-1} - деформационным колебаниям $\text{C}-\text{H}_2$, $3400\text{--}3300\text{ см}^{-1}$ - валентным колебаниям гидроксигрупп, $600\text{--}650\text{ см}^{-1}$ - валентным колебаниям пиранозного цикла. $T_{\text{пл}}$: $265\text{--}267^\circ\text{C}$.

Данные УФ-, ИК-спектров и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 2* является *изовитексином*.

Вещество 3 представляет собой кристаллический порошок ярко-желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: λ_{max} (EtOH)_{нм}: 255, 281, 370; + AlCl_3/HCl : 292; 422; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при $3000, 2902\text{ см}^{-1}$, что соответствует валентным колебаниям С-Н связей, при 1618 см^{-1} , что соответствует валентным колебаниям $-\text{C}=\text{C}-$ ароматической системы, полосы при 1317 см^{-1} - валентным колебаниям С-О, 3400 см^{-1} - валентным колебаниям фенольной-ОН, $1091, 1000, 910\text{ см}^{-1}$ - полосы деформационных колебаний -С-Н- замещенного бензольного кольца и 1640 см^{-1} - валентным колебаниям $\text{C}=\text{O}$ g-пирона, 1450 см^{-1} - деформационным колебаниям $\text{C}-\text{H}_2$, $3400\text{--}3300\text{ см}^{-1}$ - валентным колебаниям гидроксигрупп.

В ЯМР- ^1H -спектре в $\text{DMSO}-d_6$ *вещества 3* регистрируется дублет интенсивностью 1Н при 4,48 (1Н, 3-ОН, 3,4 Гц), сигналы ароматических протонов в виде дублетов при 6,18 (1Н, H^6 аром., 1,8 Гц), при 6,39 (1Н, H^8 аром., 1,8 Гц), при 6,81 (1Н, $\text{H}^{5'}$ аром., 8,3 Гц), при 7,52 (2Н, $\text{H}^{2', 6'}$ аром., 10 Гц). Характерным является наличие синглета при 12,57 (1Н, 5-ОН), который смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пиранового цикла. Остальные фенольные гидроксилы находятся в обмене с примесью воды в $\text{DMSO}-d_6$ (рисунок 4.2.2.6). $T_{\text{пл}}$: $307\text{--}309^\circ\text{C}$.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-спектров и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 3* является *кверцетином*.

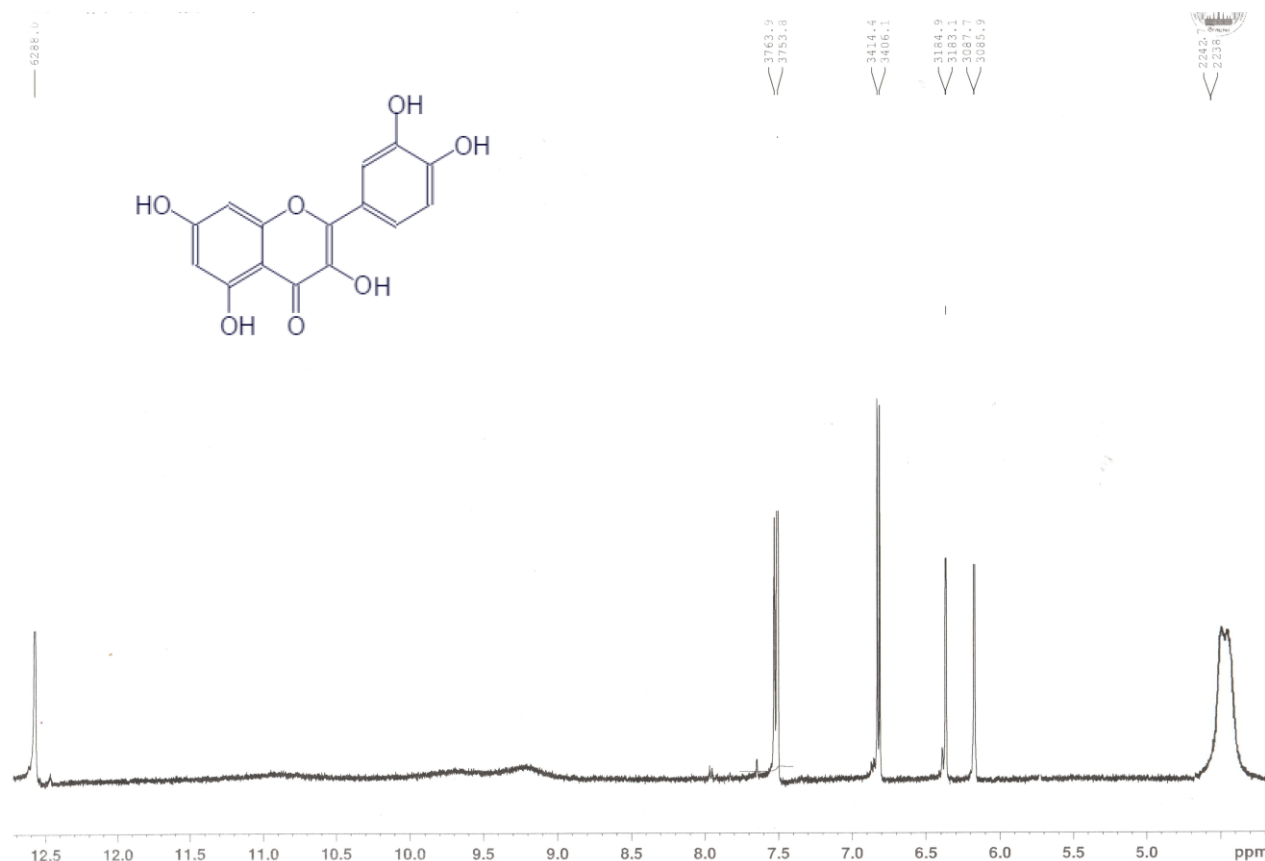


Рисунок 4.2.2.6. ЯМР- ^1H -спектр выделенного кверцетина

Вещество 4 представляет собой кристаллический порошок ярко-желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: λ_{max} (EtOH) $_{\text{нм}}$: 258, 267, 300 $_{\text{пл}}$, 363; + AlCl_3/HCl : 278, 412; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3000, 2940 и 2892 см^{-1} , что соответствует валентным колебаниям C-H связей, при 1614 см^{-1} , что соответствует валентным колебаниям -C = C-ароматической системы, полосы при 1355 см^{-1} - валентным колебаниям C-O, 3400 см^{-1} - валентным колебаниям фенольной-OH, 1092, 997, 950 см^{-1} - полосы деформационных колебаний -C-H- замещенного бензольного кольца и 1640 см^{-1} - валентным колебаниям C = O g-пирона, 1450 см^{-1} - деформационным колебаниям C-H₂, 3400-3300 см^{-1} - валентным колебаниям гидроксигрупп, 600-650 см^{-1} - валентным колебаниям пиранозного цикла.

В ЯМР- ^1H -спектре в ДМСО- d_6 *вещества 4* регистрируется мультиплетный сигнал в интервале 3,15-3,31 (5H, H), принадлежащий метиновым протонам галактозы. В спектре также регистрируются синглет при 4,36 (1H, -OH) и дублет

при 5,1 (3Н, -ОН, 9,3 Гц), соответствующие протонам гидроксильных групп сахара и дублет интенсивностью 1Н пиринового цикла при 5,42 (1Н, Н^{1''}, 7,3 Гц). Сигналы ароматических протонов агликона проявляются в виде дублетов при 6,20 (1Н, Н⁶ аром., 1,8 Гц), при 6,4 (1Н, Н⁸ аром., 1,8 Гц), при 6,82 (1Н, Н^{5'} аром., 8,3 Гц), протоны Н^{2'} и Н^{6'} за счет близких химических сдвигов образуют интенсивностью 2Н дублет при 7,52 (2Н, Н^{2'}, ^{6'} аром., 10,1 Гц). Характерным является наличие синглета при 12,62 (1Н, 5-ОН), который смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пиринового цикла. Остальные фенольные гидроксилы находятся в обмене с примесью воды в ДМСО-*d*₆ (рисунок 4.2.2.7). *T*_{пл}: 235-237 °С.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-, масс-спектров (рисунок 4.2.2.8) и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 4* является *гиперозидом*.

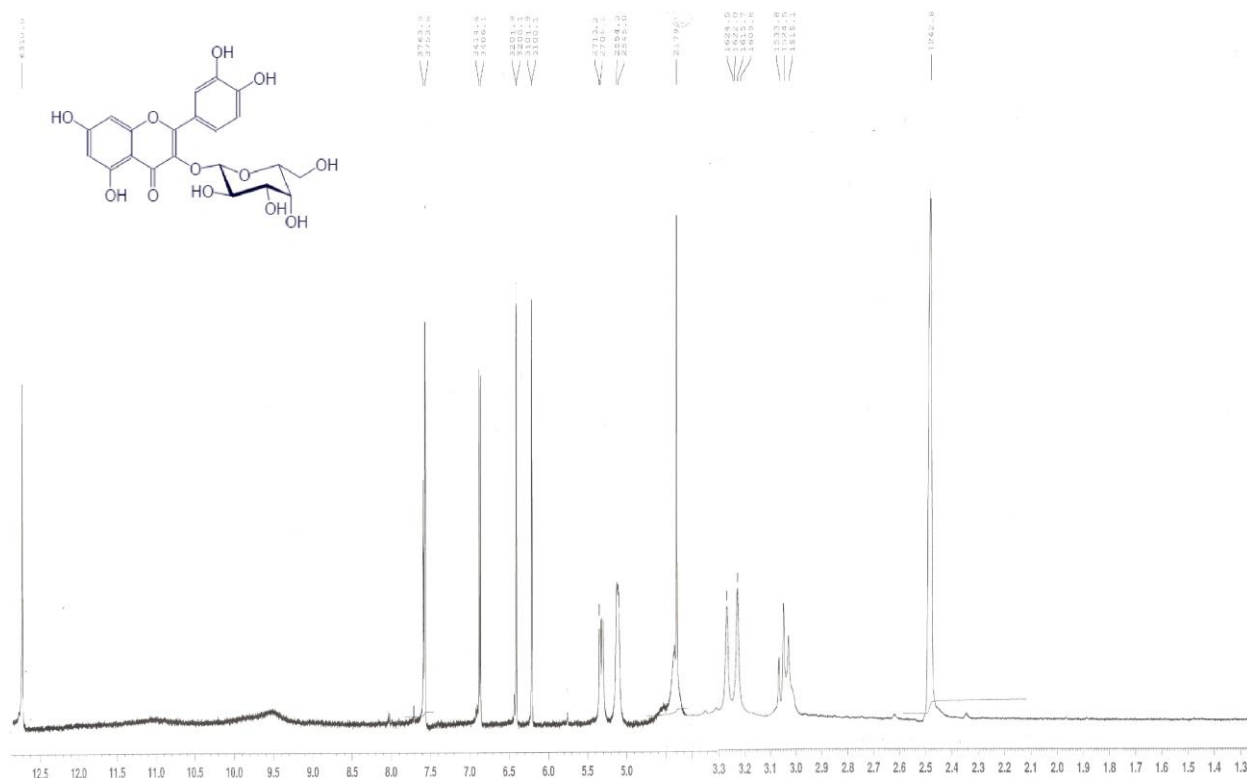


Рисунок 4.2.2.7. ЯМР- ¹Н-спектр выделенного гиперозида

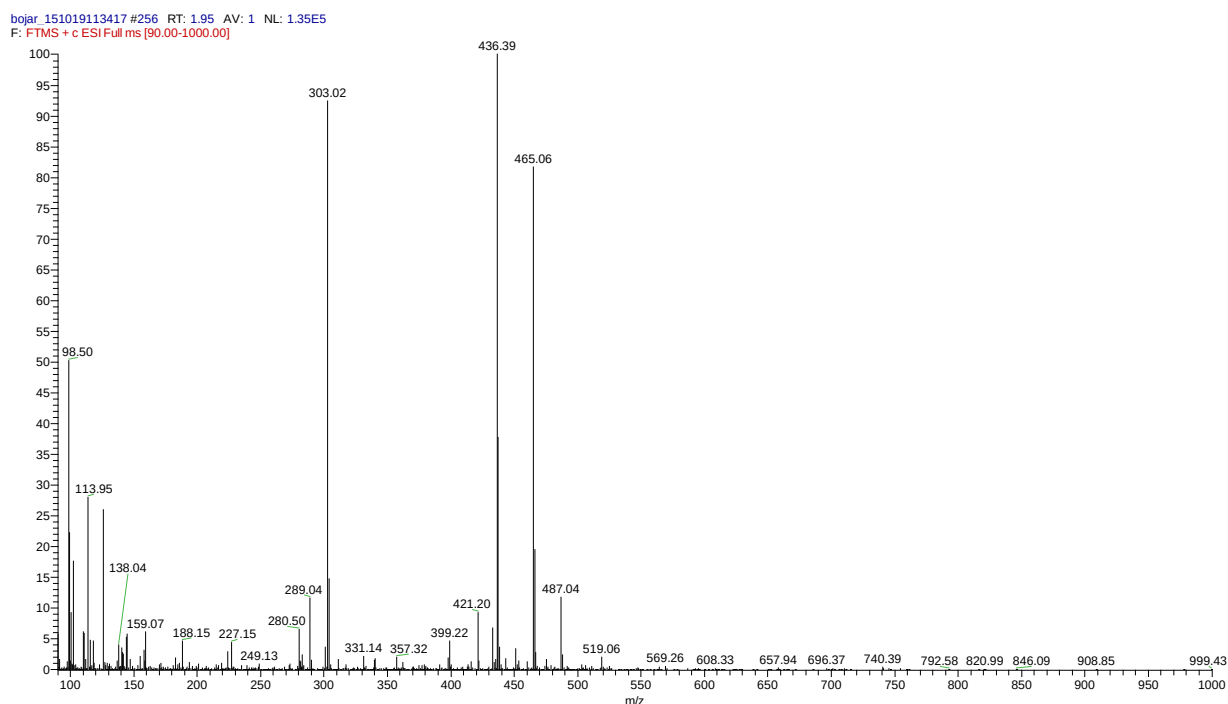


Рисунок 4.2.2.8. Масс-спектр выделенного гиперозида

Вещество 5 представляет собой кристаллический порошок светло-желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: $\lambda_{\max}$ (EtOH)_{нм}: 272, 336; +AlCl₃/HCl: 294, 385; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3000, 2950 и 2850 см⁻¹, что соответствует валентным колебаниям С-Н связей, при 1577 см⁻¹, что соответствует валентным колебаниям -С = С- ароматической системы, полосы при 1333 и 1250 см⁻¹ - валентным колебаниям С-О, 3440 см⁻¹ - валентным колебаниям фенольной-ОН, 1050, 1020, 982 и 920 см⁻¹ - полосы деформационных колебаний -С-Н- замещенного бензольного кольца и 1640 см⁻¹ - валентным колебаниям С = О g-пирона, 1410 см⁻¹ - деформационным колебаниям С-Н₂, 3400-3300 см⁻¹ - валентным колебаниям гидроксигрупп. $T_{\text{пл}}$: 227-229 °С.

Данные УФ-, ИК-, масс-спектров (рисунок 4.2.2.9) и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 5* является *космосином*.

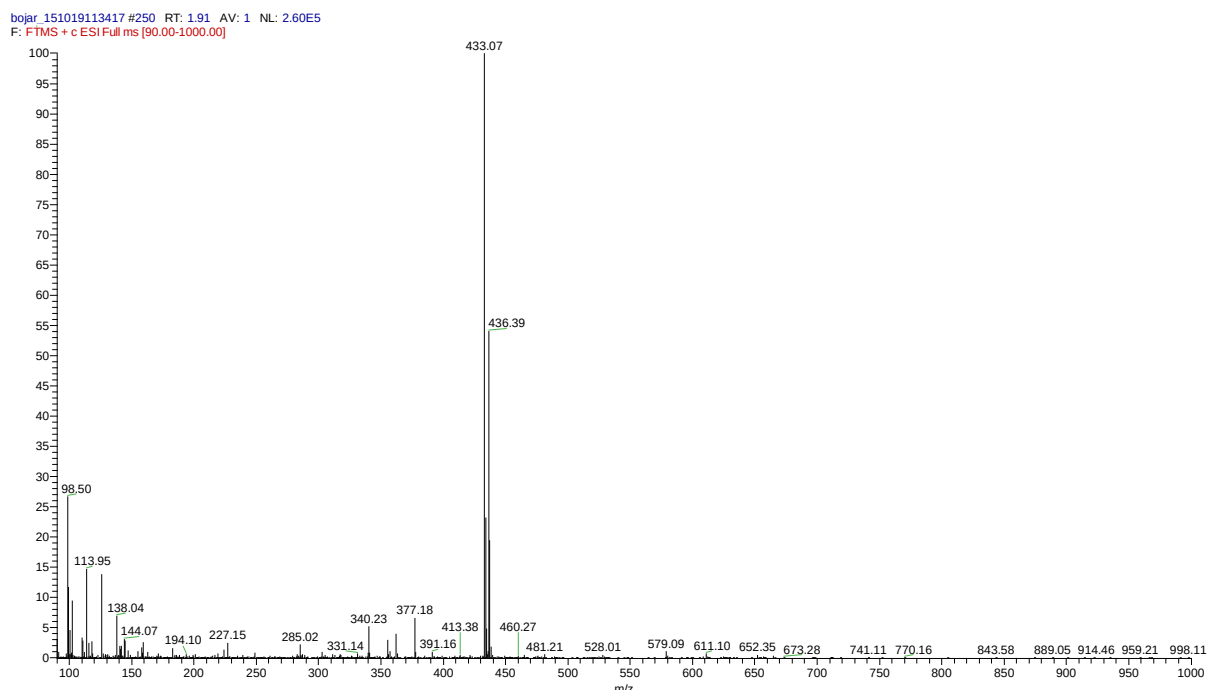


Рисунок 4.2.2.9. Масс-спектр выделенного космоина

Вещество 6 представляет собой кристаллический порошок светло-желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: λ_{max} (EtOH)нм: 271, 335 нм; +AlCl₃/HCl: 278, 382; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3000 и 2940 см⁻¹, что соответствует валентным колебаниям С-Н связей, при 1578 см⁻¹, что соответствует валентным колебаниям -С = С- ароматической системы, полосы при 1350 и 1260 см⁻¹ - валентным колебаниям С-О, 3400 см⁻¹ - валентным колебаниям фенольной-ОН, 1050, 1010, 920 см⁻¹ - полосы деформационных колебаний -С-Н- замещенного бензольного кольца и 1640 см⁻¹ - валентным колебаниям С = О g-пирона, 1425 см⁻¹ - деформационным колебаниям С-Н₂, 3400-3300 см⁻¹ - валентным колебаниям гидроксигрупп.

В ЯМР- ¹Н-спектре в ДМСО-*d*₆ *вещества 6* регистрируются сигналы ароматических протонов в виде синглетов при 6,28 (1Н, Н⁶), при 6,57 (1Н, Н⁸), при 6,71 (1Н, Н³) и дублетов при 7,13 (1Н, Н^{3'} аром., 4,6 Гц), при 7,97 (2Н, Н² и Н^{6'} аром., 1,6 Гц). Характерным является наличие синглета при 12,02 (1Н, 5-ОН), который смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пиранового цикла. Остальные фе-

нольные гидроксилы находятся в обмене с примесью воды в ДМСО- d_6 (рисунок 4.2.2.10). $T_{пл}$: 341-343 °С.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-спектров и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 6* является *апигенином*.

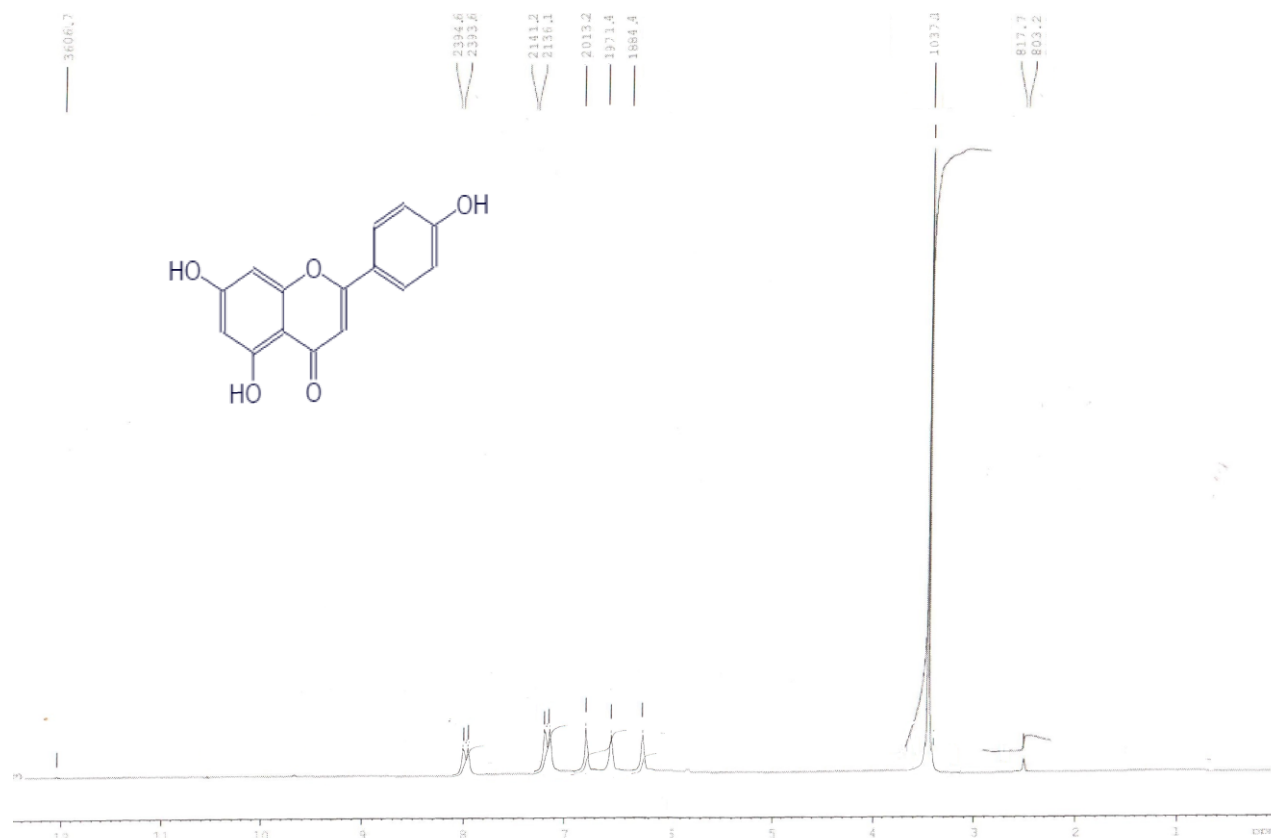


Рисунок 4.2.2.10. ЯМР- ^1H -спектр выделенного апигенина

Вещество 7 представляет собой кристаллический порошок желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: $\lambda_{\max}$ (EtOH) $_{nm}$: 258, 267, 300 $_{пл}$, 353 nm; + AlCl_3/HCl : 279, 409; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3000 и 2840 cm^{-1} , что соответствует валентным колебаниям C-H связей, при 1600, 1558 и 1510 cm^{-1} , что соответствует валентным колебаниям -C = C- ароматической системы, полосы при 1350 и 1260 cm^{-1} - валентным колебаниям C-O, 3400 cm^{-1} - валентным колебаниям фенольной-OH, 1050, 1010, 970, 900 cm^{-1} - полосы деформационных колебаний -C-H- замещенного бензольного кольца и 1640 cm^{-1} - валентным колебаниям C = O g-пирона, 1425 cm^{-1} - деформационным колебаниям C-H₂, 3400-3300 cm^{-1} - валентным колебаниям гидроксигрупп, 600-650 cm^{-1} - валентным колебаниям пиранозного цикла.

В ЯМР- ^1H -спектре в ДМСО- d_6 вещества 7 регистрируется дублетный сигнал метильных протонов фрагмента рамнозы при 0,97 (3H, C^6H_3 -рамноза, 6,1 Гц), два дублетных сигнала интенсивностью 1H каждый при 3,02 (1H, $\text{C}^6\text{H}_\text{A}$ – глюкоза, 9,3 Гц) и 3,06 (1H, $\text{C}^6\text{H}_\text{B}$ – глюкоза, 9,3 Гц), соответствующие диастереотопным метиленовым протонам глюкозы, мультиплетный сигнал в интервале 3,19-3,32 (4H глюкоза+4H рамноза), принадлежащий метиновым протонам дисахарида – рутинозида. В спектре также регистрируются синглет при 4,36 (1H, -ОН) и дублет при 5,1 (3H, -ОН, 9,3 Гц), соответствующие протонам гидроксильных групп сахаров. Сигналы ароматических протонов агликона проявляются в виде дублетов при 6,17 (1H, H^6 аром., 1,8 Гц), при 6,37 (1H, H^8 аром., 1,8 Гц), при 6,82 (1H, $\text{H}^{5'}$ аром., 8,3 Гц), а протоны $\text{H}^{2'}$ и $\text{H}^{6'}$ за счет близких химических сдвигов образуют интенсивностью 2H несимметричный дублет при 7,52 (2H, $\text{H}^{2'}, 6'$ аром., 10,1 Гц). Характерным является наличие синглета при 12,58 (1H, 5-ОН), который смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пиранового цикла. Остальные фенольные гидроксилы находятся в обмене с примесью воды в ДМСО- d_6 (рисунок 4.2.2.11). $T_{\text{пл}}$: 194-196°C.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-спектров и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 7* является *рутином*.

Вещество 8 представляет собой кристаллический порошок темно-желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: λ_{max} (EtOH)нм: 243, 327+ AlCl_3/HCl : 261, 379. ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3000 и 2840 см^{-1} , что соответствует валентным колебаниям С-Н связей, при 1600, 1558 и 1510 см^{-1} , что соответствует валентным колебаниям -С = С-ароматической системы, полосы при 1350 и 1260 см^{-1} - валентным колебаниям С-О, 3400 см^{-1} - валентным колебаниям фенольной-ОН, 970, 900 см^{-1} - полосы деформационных колебаний -С-Н- замещенного бензольного кольца, 1450 см^{-1} - деформационным колебаниям С-Н₂, 3400-3300 см^{-1} - валентным колебаниям гидроксигрупп.

В ЯМР-¹H-спектре в ДМСО-*d*₆ вещества 8 регистрируются дублетные сигналы при 6,75 (1H, H⁶ аром., 10 Гц), при 6,93 (1H, H⁵ аром., 9,6 Гц) и синглет при 7,05 (1H, H² аром.), принадлежащие протонам ароматического цикла, два дублета при 6,2 (1H, H^{1'} боковой цепи, 10 Гц) и 7,4 (1H, H^{2'} боковой цепи, 9,1 Гц), принадлежащие двум протонам пропанового фрагмента, и два синглета при 9,13 (1H,

3-ОН), 9,54 (1H, 4-ОН), принадлежащие протонам фенольных гидроксильных, синглет при 12,12 (1H, 9-ОН), принадлежащий протону гидроксильной группы, который смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пропанового фрагмента (рисунок 4.2.2.12).

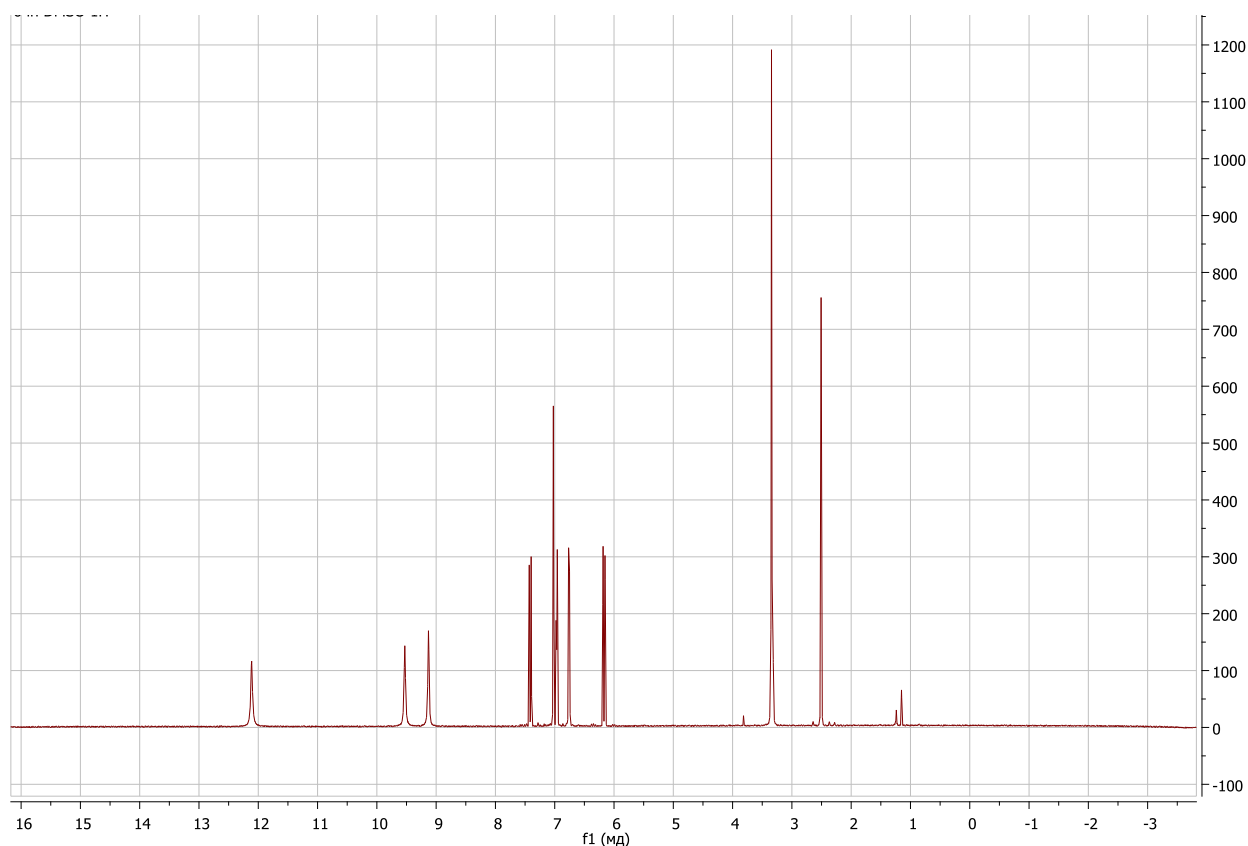


Рисунок 4.2.2.12. ЯМР- ^1H -спектр выделенной кофейной кислоты

ЯМР- ^{13}C - спектр *вещества 8* измеряли с использованием программы, регистрирующей углеродный спектр и преобразующей его так, что четные и нечетные замещенные атомы углерода оказываются в разных плоскостях. В спектре наблюдаются девять сигналов: четыре сигнала, соответствующие четвертичным атомам углерода (сигналы направлены вверх) и пять - СН-группам (сигналы направлены вниз). Наиболее слабополярный сигнал 168,5 м.д. принадлежат C^9 атому пропанового фрагмента, сигналы 145 и 121,5 м.д. – C^8 и C^7 атомам пропанового фрагмента, сигналы 148,5 (C^4), 146 (C^3), 126 (C^1), 115 (C^5), 115,5 (C^6) и 116 (C^2)

м.д. соответствуют атомам ароматического кольца (рисунок 4.2.2.13). $T_{пл}$: 195-197°C.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-спектров и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 8* является *кофейной кислотой*.

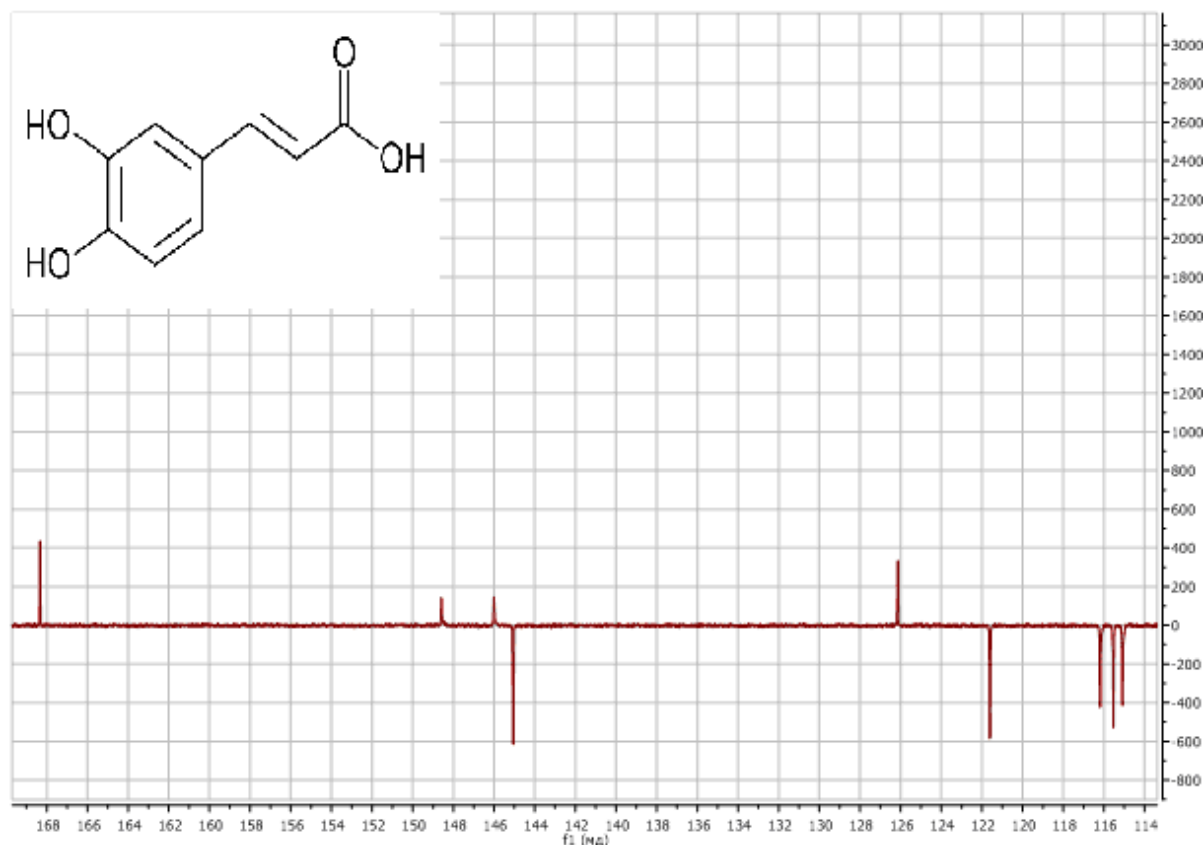


Рисунок 4.2.2.13. ЯМР- ^{13}C -спектр выделенной кофейной кислотой

Вещество 9 представляет собой кристаллический порошок кремового цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: $\lambda_{\max}$ (EtOH)нм: 284, 333 нм; $+\text{AlCl}_3/\text{HCl}$: 306, 383; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 2940 и 2840 см^{-1} , что соответствует валентным колебаниям С-Н связей, при 1582, 1520 см^{-1} , что соответствует валентным колебаниям -С = С- ароматической системы, полосы при 1350 и 1260 см^{-1} - валентным колебаниям С-О, 3400 см^{-1} - валентным колебаниям фенольной-ОН, 1040, 986, 900 см^{-1} - полосы деформационных колебаний -С-Н- замещенного бензольного кольца и 1640 см^{-1} - валентным колебаниям С = О g-пирона, 1425 см^{-1} - деформационным колебаниям С-

H_2 , 3400-3300 см^{-1} - валентным колебаниям гидроксигрупп, 600-650 см^{-1} - валентным колебаниям пиранозного цикла.

В ЯМР- ^1H -спектре в $\text{DMSO-}d_6$ *вещества 9* регистрируется дублетный сигнал метильных протонов при 1,14 (3H, C^6H_3 -рамноза, 5,9 Гц), соответствующий фрагменту рамнозы, два дублетных сигнала при 3,18 (1H, $\text{C}^6\text{H}_\text{A}$ – глюкоза, 4,6 Гц) и 3,06 (1H, $\text{C}^6\text{H}_\text{B}$ – глюкоза, 9,3 Гц), соответствующие диастереотопным метиленовым протонам глюкозы, мультиплетный сигнал в интервале 3,21-3,65 (4H глюкоза+4H рамноза), принадлежащий метиновым протонам сахаров. В спектре регистрируются несколько дублетов при 4,51 (1H, -ОН, 5,6 Гц), 4,7 (1H, -ОН, 4,7 Гц), 4,75 (1H, -ОН, 4,5 Гц), 5,15 (1H, -ОН, 6,2 Гц), 5,32 (1H, -ОН, 4,3 Гц) и синглеты при 4,6 (1H, -ОН) и 5,08 (1H, -ОН, 9,3 Гц), соответствующие протонам гидроксильных групп дисахарида. Сигналы ароматических протонов агликона проявляются в виде дублетных сигналов при 6,08 (1H, H^6 аром., 7,1 Гц), при 6,78 (1H, H^8 аром., 8,2 Гц), при 7,3 (1H, $\text{H}^{5'}$ аром., 8,3 Гц). Протон фенольного гидроксила регистрируется в виде синглета при 9,68 (1H, 4'-ОН). Характерный синглетный сигнал при 12,05 (1H, 5-ОН) смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пиранозного фрагмента (рисунок 4.2.2.14). $T_{\text{пл}}$: 173-175°C.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-спектров и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 9* является *нарингином*.

Вещество 10 представляет собой кристаллический порошок светло-желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: λ_{max} (EtOH)_{нм}: 291, 335 нм; +AlCl₃/HCl: 245, 316, 382; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3000 и 2840 см⁻¹, что соответствуют валентным колебаниям С-Н связей, при 1610, 1560 и 1510 см⁻¹, что соответствуют валентным колебаниям -С = С- ароматической системы, полосы при 1350 и 1260 см⁻¹ - валентным колебаниям С-О, 3400 см⁻¹ - валентным колебаниям фенольной-ОН, 1080, 1010, 990, 900 см⁻¹ - полосы деформационных колебаний -С-Н- замещенного бензольного кольца и 1640 см⁻¹ - валентным колебаниям С = О g-пирона, 1425 см⁻¹ - деформационным колебаниям С-Н₂, 3400-3300 см⁻¹ - валентным колебаниям гидроксигрупп.

В ЯМР- ^1H -спектре в ДМСО- d_6 вещества 10 регистрируются дублет дублетов при 4,51 (1H, H³, 6,0 и 11,0 Гц) и синглет при 5,03 (1H, H²), соответствующие протонам пиринового фрагмента. Сигнал, соответствующий протону гидроксильной группы пиранового фрагмента наблюдается в виде дублета при 4,59 (1H,

3-ОН, 4,7 Гц). Сигналы ароматических протонов регистрируются в виде дублет дублетов при 5,81 (1H, H⁸аром., 2,0 и 2,0 Гц) и мультиплетов при 5,89 (1H, H⁶аром.), 6,75 (1H, H^{5'}аром.), 6,86 (1H, H^{2'}аром.) и синглета при 7,32 (1H, H^{5'}аром.). Протоны фенольных гидроксиллов регистрируются в виде уширенного сигнала при 9,01-9,08 (2H, 3'-ОН, 4'-ОН) и синглета при 10,81 (1H, 7-ОН). Имеется характерный синглетный сигнал при 11,91 (1H, 5-ОН), который смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пиринового фрагмента (рисунок 4.2.2.15).

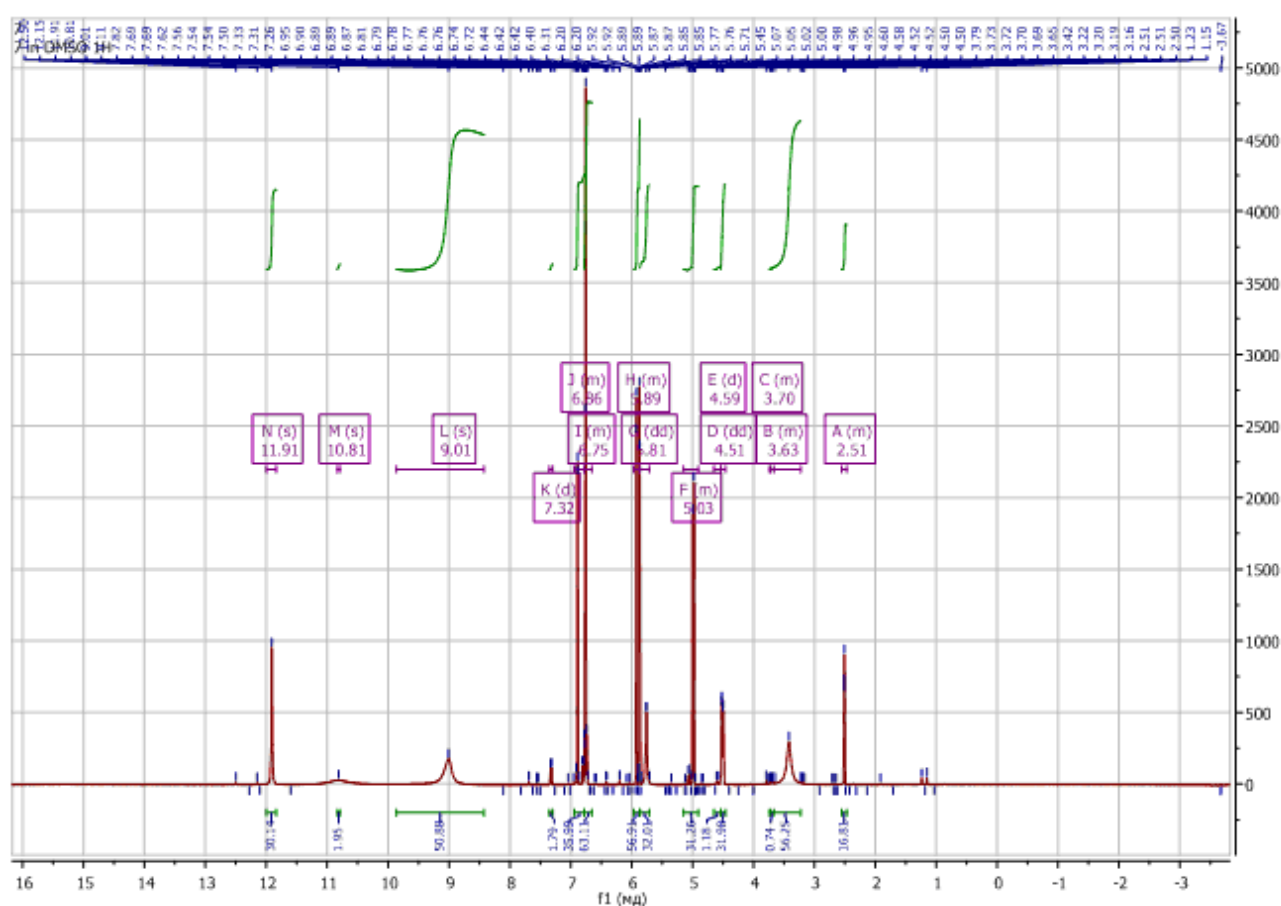


Рисунок 4.2.2.15. ЯМР-¹H-спектр выделенного дигидрокверцетина

В ЯМР-¹³C-спектре вещества 10 наблюдаются пятнадцать сигналов: восемь сигналов, соответствующие четвертичным атомам углерода (сигналы направлены вверх) и семь - СН-группам (сигналы направлены вниз). Регистрируются сигналы при 198,33 (C⁴), 163,78 (C^{3'}), 163,27 (C^{4'}), 163,02 (C^{1'}), 146,23 (C⁵), 145,39 (C⁷),

128,5 (C^9), 100,94 (C^{10}) м.д. и 129,95 (C^2), 119,87(C^3), 115,68 ($C^{2'}$), 96,45 ($C^{5'}$), 95,44 ($C^{6'}$), 83,51 (C^6) и 72,02 (C^8) м.д. (рисунок 4.2.2.16). $T_{пл}$: 225-227°C.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-спектров и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 10* является *дигидрокверцетином*.

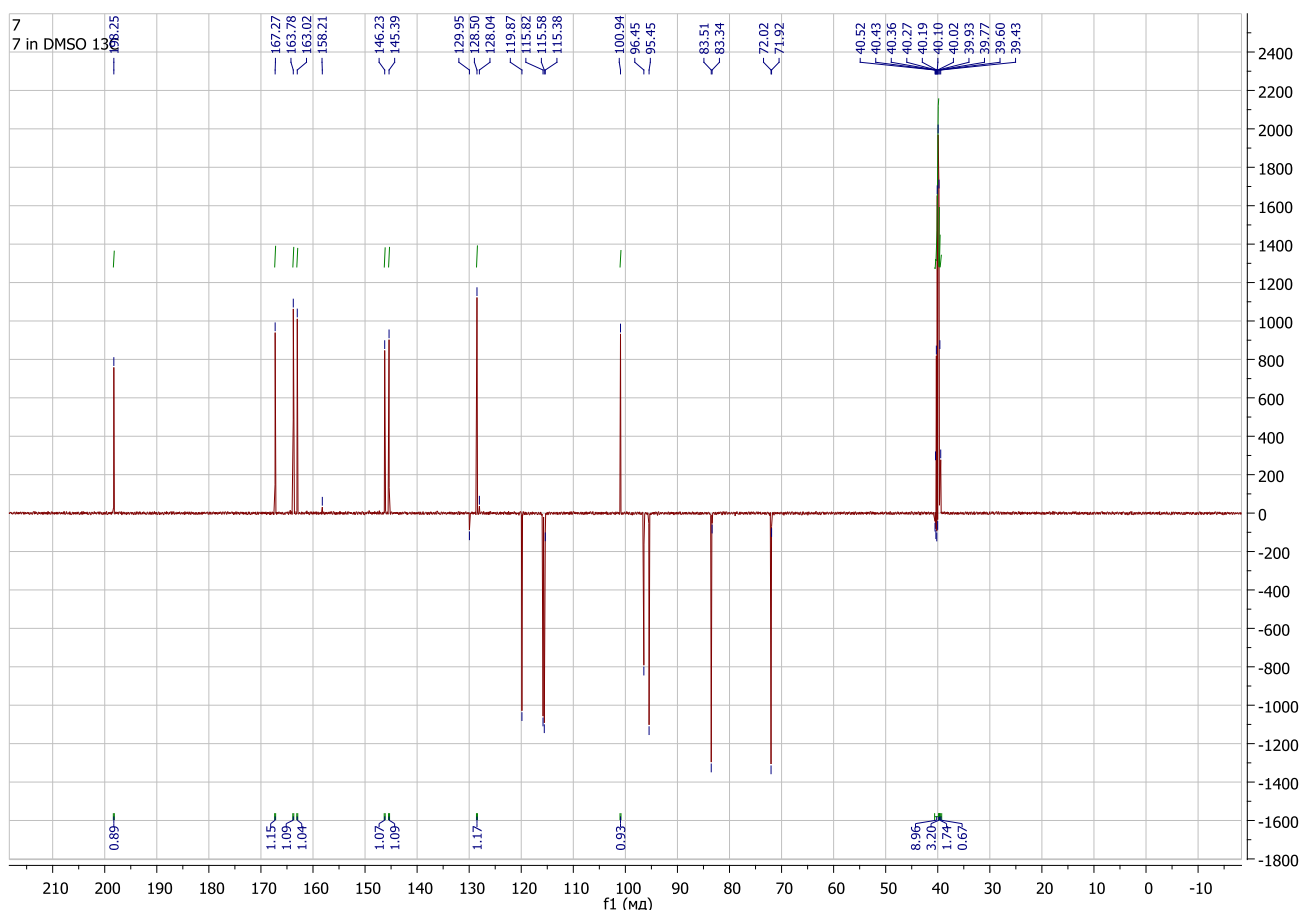


Рисунок 4.2.2.16. ЯМР- ^{13}C -спектр выделенного дигидрокверцетина

Вещество 11 представляет собой кристаллический порошок лимонно-желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: λ_{max} (EtOH)_{нм}: 255, 267, 294_{пл}, 351 + $AlCl_3/HCl$: 279, 398; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3000 и 2950 cm^{-1} , что соответствует валентным колебаниям С-Н связей, при 1600 cm^{-1} , что соответствует валентным колебаниям С = С- ароматической системы, полосы при 1350 и 1270 cm^{-1} - валентным колебаниям С-О, 3400 cm^{-1} - валентным колебаниям фенольной-ОН, 1030, 1010 cm^{-1} - полосы деформационных колебаний -С-Н- замещенного бензольного кольца и

1655 см^{-1} - валентным колебаниям $\text{C}=\text{O}$ g-пирона, 1425 см^{-1} - деформационным колебаниям $\text{C}-\text{H}_2$.

В ЯМР- ^1H -спектре в ДМСО- d_6 вещества 11 регистрируются сигналы ароматических протонов в виде дублета при 6,19 (1H, H^6), синглета при 6,44 (1H, H^8), дублет дублетов при 6,78 (2H, H^3 , $\text{H}^{5'}$ аром.), при 7,41 (2H, $\text{H}^{6'}$, $\text{H}^{2'}$ аром., 4,6 Гц). Синглетные сигналы протонов фенольных гидроксильных групп интенсивностью в 1H регистрируются при 9,41 (1H, 4'-ОН), 9,92 (1H, 3'-ОН), и 10,83 (1H, 7-ОН). Характерным является наличие синглета при 12,97 (1H, 5-ОН), который смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пиранового цикла (рисунок 4.2.2.17.).

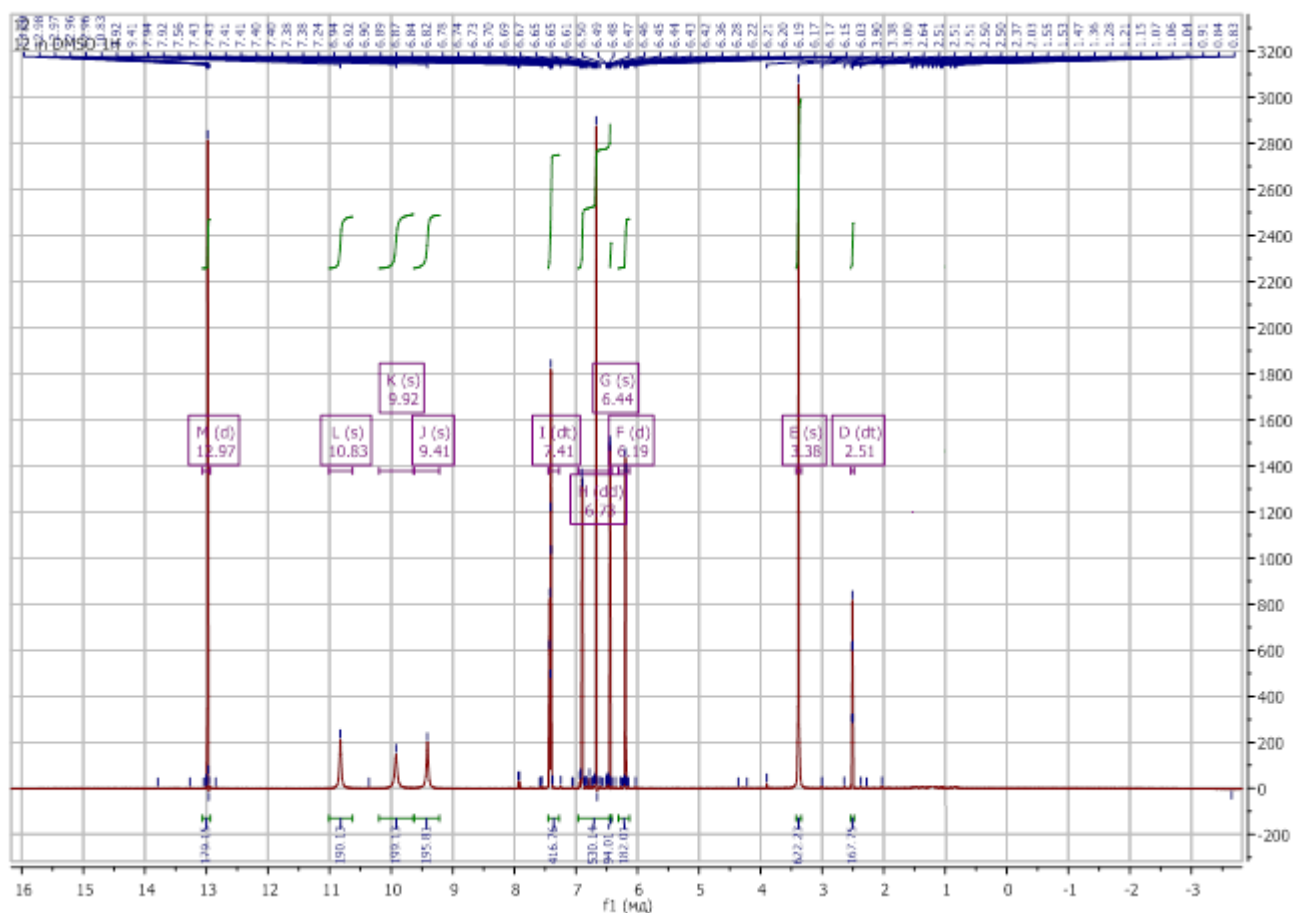


Рисунок 4.2.2.17. ЯМР- ^1H -спектр выделенного лутеолина

В ЯМР- ^{13}C -спектре вещества 11 наблюдаются пятнадцать сигналов: девять сигналов, соответствующие четвертичным атомам углерода (сигналы направлены вверх) и шесть - CH -группам (сигналы направлены вниз). Регистрируются сигнала-

лы при 182,12 (C^4), 164,57 (C^3), 164,35 (C^4'), 161,94 (C^1), 157,75 (C^5), 150,15 (C^7), 146,19 (C^2), 121,98 (C^9), 104,17 (C^{10}) м.д. и 119,45 (C^3), 116,74 ($C^{2'}$), 113,9 (C^5), 103,09 ($C^{6'}$), 99,28 (C^6) и 94,07 (C^8) м.д. (рисунок 4.2.2.18). $T_{пл}$: 330-332°C.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-спектров и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 11* является лютеолином.

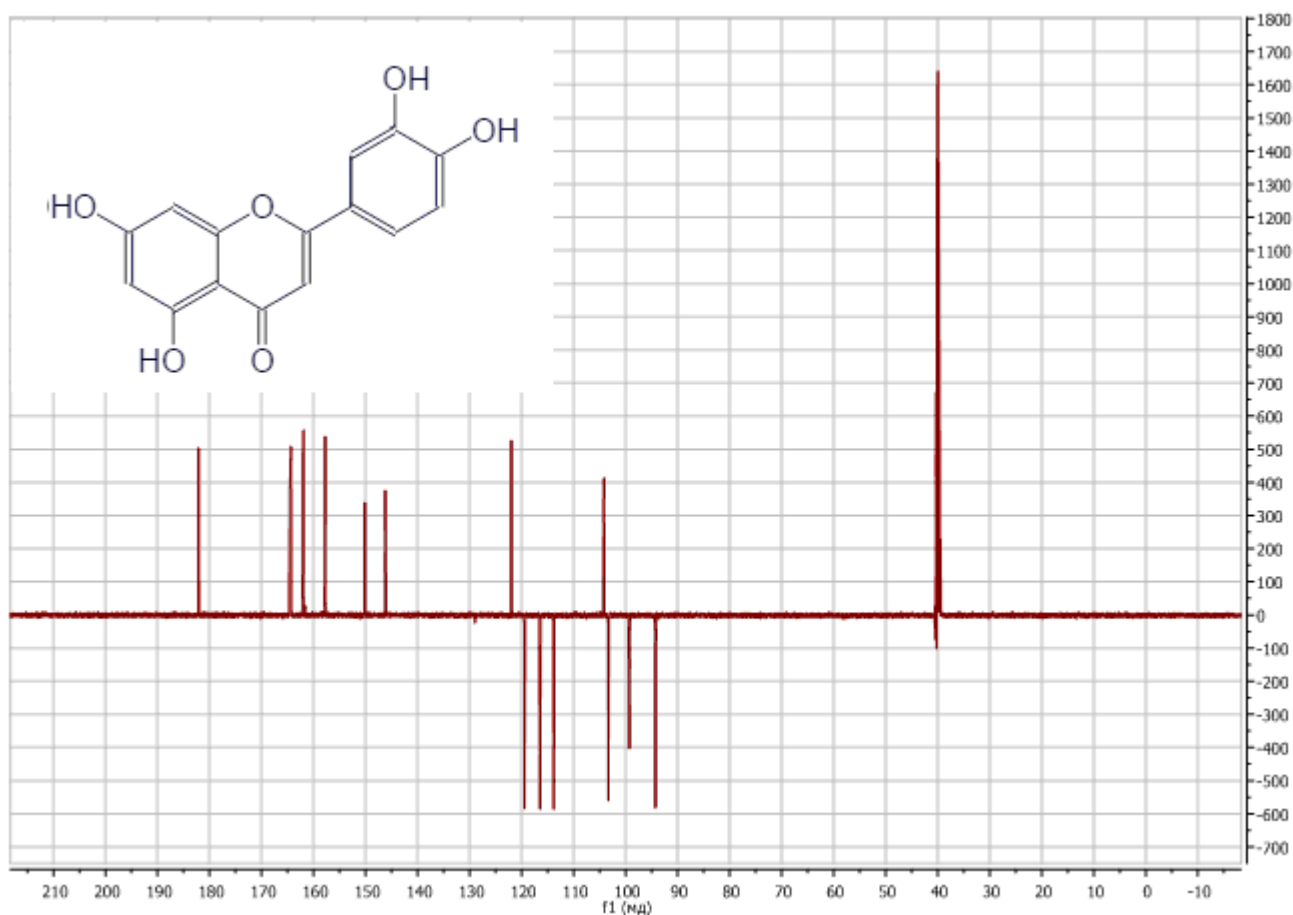


Рисунок 4.2.2.18. ЯМР- ^{13}C -спектр выделенного лютеолина

Вещество 12 представляет собой кристаллический порошок лимонно-желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: λ_{max} (EtOH)нм: 255, 269, 353; + $AlCl_3/HCl$: 278, 395; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3000 и 2850 cm^{-1} , что соответствует валентным колебаниям C-H связей, при 1600, 1560 и 1510 cm^{-1} , что соответствует валентным колебаниям -C = C- ароматической системы, полосы при 1350 и 1260 cm^{-1} - валентным колебаниям C-O, 3400 cm^{-1} - валентным колебаниям фенольной-OH, 1050, 1010 cm^{-1} - полосы деформационных колебаний -C-H- замещенного бензольного кольца и

1640 см^{-1} - валентным колебаниям $\text{C} = \text{O}$ g-пирона, 1425 см^{-1} - деформационным колебаниям $\text{C}-\text{H}_2$, 3400-3300 см^{-1} - валентным колебаниям гидроксигрупп, 600-650 см^{-1} - валентным колебаниям пиринового цикла.

В ЯМР- ^1H -спектре в $\text{DMSO}-d_6$ *вещества 12* регистрируется мультиплетный сигнал в интервале 3,13-3,28 (4H глюкоза), принадлежащий метиновым протонам и дублет при 5,1 (3H, -ОН, 9,3 Гц), соответствующий протонам гидроксильных групп глюкопиранозы. Сигналы ароматических протонов агликона проявляются в виде синглета при 6,20 (1H, H^6), дублетов при 6,5 (1H, H^8 , 2,1 Гц), при 6,8 (1H, H^3 , 2,1 Гц), при 6,92 (1H, $\text{H}^{5'}$ аром., 8,1 Гц), при 7,52 (2H, $\text{H}^{6'}$, $\text{H}^{2'}$ аром., 4,6 Гц). Протон фенольного гидроксила регистрируется в виде синглетного сигнала при 9,05 (1H, 3'-ОН). Характерным является наличие синглета при 12,87 (1H, 5-ОН), который смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутри-молекулярной водородной связи с карбонильной группой пиринового цикла. Фенольный гидроксил 4'-ОН находится в обмене с примесью воды в $\text{DMSO}-d_6$ и не регистрируется (рисунок 4.2.2.19). $T_{\text{пл}}$: 247-249°C.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-спектров и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 12* является *лютеолин-7-О-глюкозидом (цингарозидом)*.

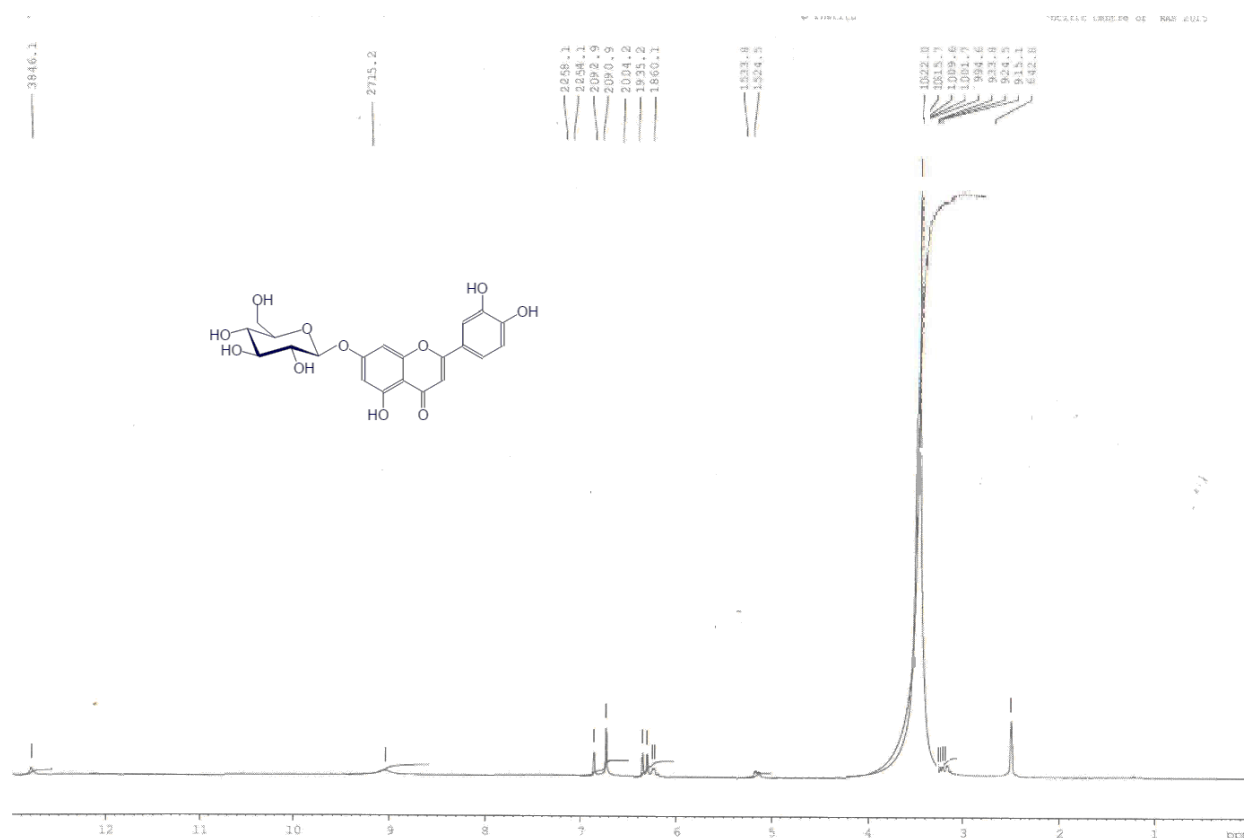


Рисунок 4.2.2.19. ЯМР- ^1H -спектр выделенного лутеолин-7-О-гликозида (цинарозида)

Вещество 13 представляет собой кристаллический порошок темно-желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: λ_{max} (EtOH)нм: 258, 267, 321, 370; + AlCl_3/HCl : 232, 277, 431; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3000 и 2850см^{-1} , что соответствует валентным колебаниям С-Н связей, при 1600 , 1560 и 1510см^{-1} , что соответствует валентным колебаниям -С = С- ароматической системы, полосы при 1350 и 1260см^{-1} - валентным колебаниям С-О, 3400см^{-1} - валентным колебаниям фенольной-ОН, 1050 , 970 , 900см^{-1} - полосы деформационных колебаний -С-Н- замещенного бензольного кольца и 1640см^{-1} - валентным колебаниям С = О g-пирона, 1425см^{-1} - деформационным колебаниям С-Н₂, $3400\text{-}3300\text{см}^{-1}$ - валентным колебаниям гидроксигрупп.

В ЯМР- ^1H -спектре в $\text{DMSO-}d_6$ *вещества 13* регистрируются дублет интенсивностью 1Н при 4,64 (1Н, 3-ОН, 3,3 Гц), сигналы ароматических протонов в виде синглетов при 6,69 (1Н, Н⁶), дублетов при 6,78 (1Н, Н⁸, 2,1Гц), при 6,91 (1Н, Н^{3'}, 2,1Гц), при 7,06 (1Н, Н^{6'} аром., 8,2 Гц), при 7,25 (2Н, Н^{6'}, Н^{2'} аром., 4,7 Гц). Протоны фенольных гидроксильных групп регистрируются в виде синглетов при 9,03 (1Н,

7-OH), при 9,26 (1H, 4'-OH), при 9,63 (1H, 5'-OH) (рисунок 4.2.2.20). $T_{пл}$: 350-352°C.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-спектров и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 13* является *физетином*.

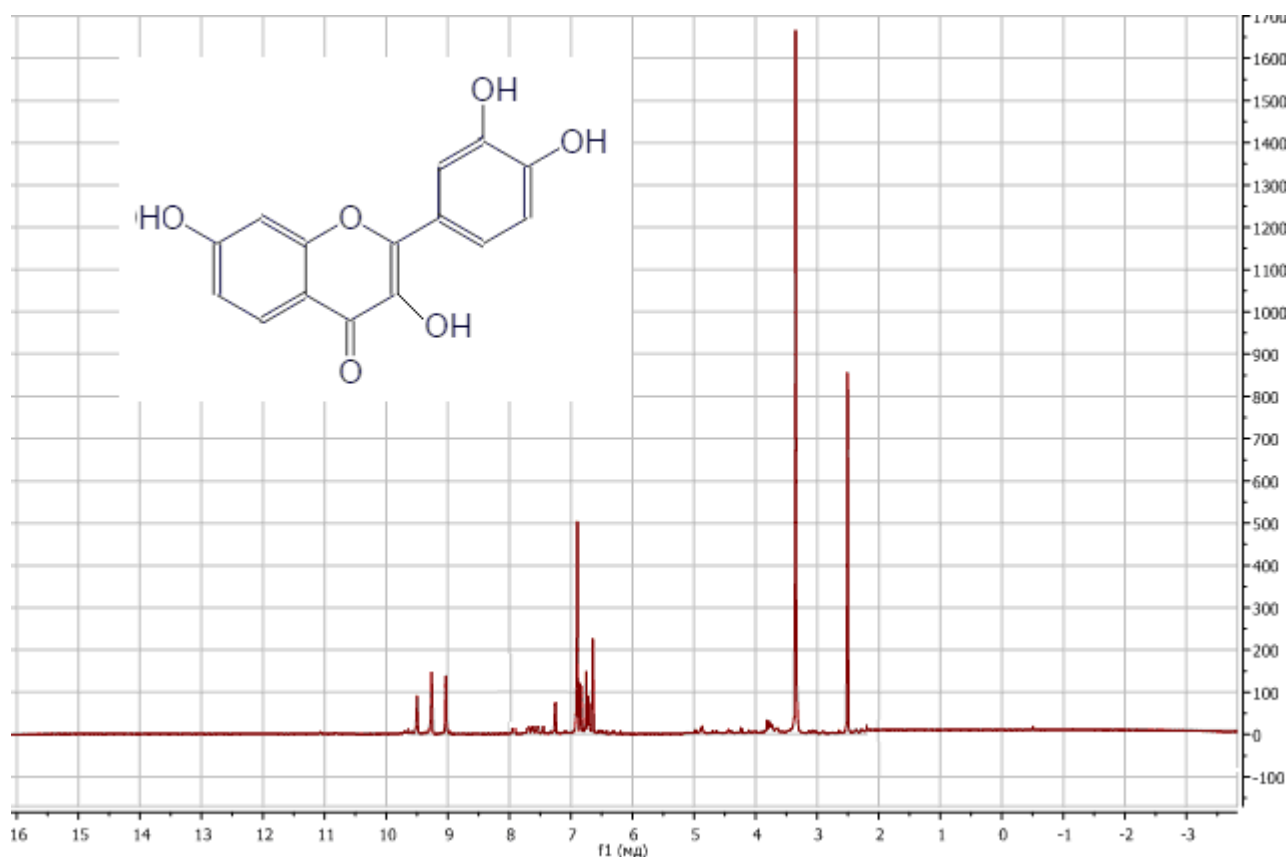


Рисунок 4.2.2.20. ЯМР- ^1H -спектр выделенного физетина

Вещество 14 представляет собой кристаллический порошок светло-желтого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: λ_{max} (EtOH)nm: 284, 330, + AlCl_3/HCl : 306, 388; ИК(KBr): в ИК-спектре имеются полосы поглощения при 3080, 3010, 2980, 2865 cm^{-1} , что соответствует валентным колебаниям C-H связей при 2850 cm^{-1} - валентным колебаниям C-H связей (-OCH₃) , при 1600, 1558 и 1510 cm^{-1} , что соответствует валентным колебаниям -C = C- ароматической системы, полосы при 1350 и 1260 cm^{-1} - валентным колебаниям C-O, 3400 cm^{-1} - валентным колебаниям фенольной-OH, 1050, 1010, 970, 900 cm^{-1} - полосы деформационных колебаний -C-H- замещенного бензольного кольца и 1640 cm^{-1} - валент-

ным колебаниям $C=O$ γ -пирона, 1425см^{-1} - деформационным колебаниям $C-H_2$, $3400-3300\text{см}^{-1}$ - валентным колебаниям гидроксигрупп, $600-650\text{см}^{-1}$ - валентным колебаниям пиранозного цикла.

В ЯМР- ^1H -спектре в $\text{DMSO-}d_6$ вещества 14 регистрируется дублетный сигнал метильных протонов фрагмента рамнозы при 1,09 (3H, $C^6\text{H}_3$ -рамноза, 6,2 Гц), мультиплетный сигнал в интервале 3,22-3,41 (4H глюкоза+4H рамноза), принадлежащий метиновым протонам дисахарида - рутинозида. В спектре также регистрируются несколько дублетов при 4,54 (1H, -ОН, 5,6 Гц), 4,62 (1H, -ОН, 4,5 Гц), 4,69 (1H, -ОН, 4,4 Гц), 4,99 (1H, -ОН, 6,1 Гц), 5,18 (1H, -ОН, 4,3 Гц) и синглет при 4,44 (1H, -ОН), соответствующие протонам гидроксильных групп сахаров. Протоны пиранового фрагмента регистрируются в виде дублета при 2,77 (1H, $\text{H}^{3\text{ax}}$, 6,0 Гц) и синглетов при 3,2 (1H, $\text{H}^{3\text{eq}}$), 5,44 (1H, H^2). Сигналы ароматических протонов агликона проявляются в виде мультиплетов при 6,13 (2H, H^6 , H^8 аром., 1,8 Гц), при 6,94 (3H, $\text{H}^{5'}$, $\text{H}^{2'}$, $\text{H}^{6'}$ аром., 8,3 Гц). Протон фенольного гидроксила регистрируется в виде синглета при 9,1 (1H, 4'-ОН). Характерным является наличие синглета при 12,02 (1H, 5-ОН), который смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пиранового цикла (рисунок 4.2.2.21).

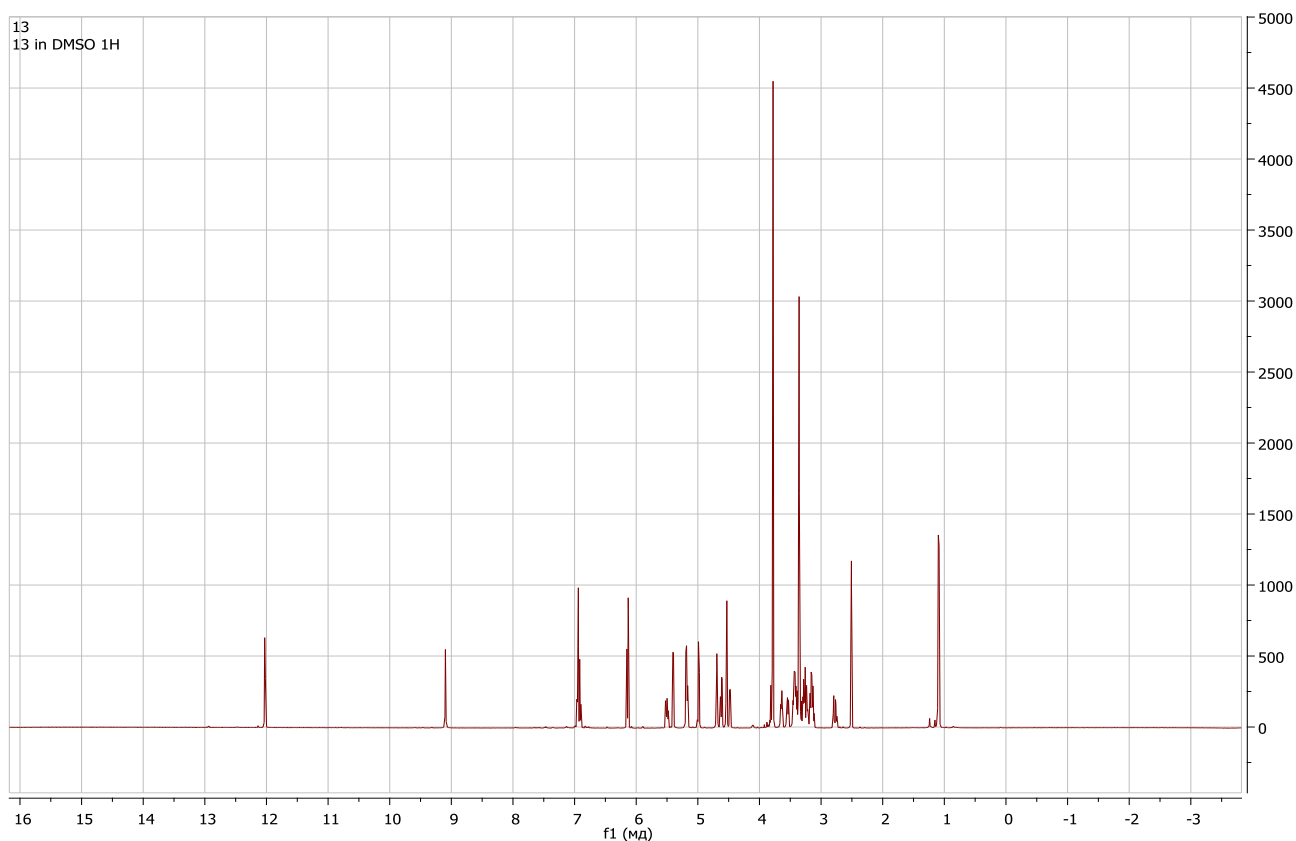


Рисунок 4.2.2.21. ЯМР- ^1H -спектр выделенного гесперидина

В ЯМР- ^{13}C -спектре *вещества 14* наблюдаются двадцать восемь сигналов: десять сигналов, соответствующие четвертичным атомам углерода (сигналы направлены вверх) при 197,5; 165,57; 163,57; 162,98; 148,4; 146,9; 131,39; 103,78; 66,52 и 42,75 м.д. и восемнадцать - СН-группам (сигналы направлены вниз) при 118,83; 114,61; 112,47; 100,99; 99,89; 96,83; 96,15; 79,37; 76,98; 75,97; 73,44; 72,42; 71,38; 71,01; 70,66; 69,97; 68,55 и 56,62 м.д. (рисунок 4.2.2.22). $T_{\text{пл}}$: 252-254°C.

Данные УФ-, ИК-, ЯМР-спектров и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 14* является *гесперидином*.

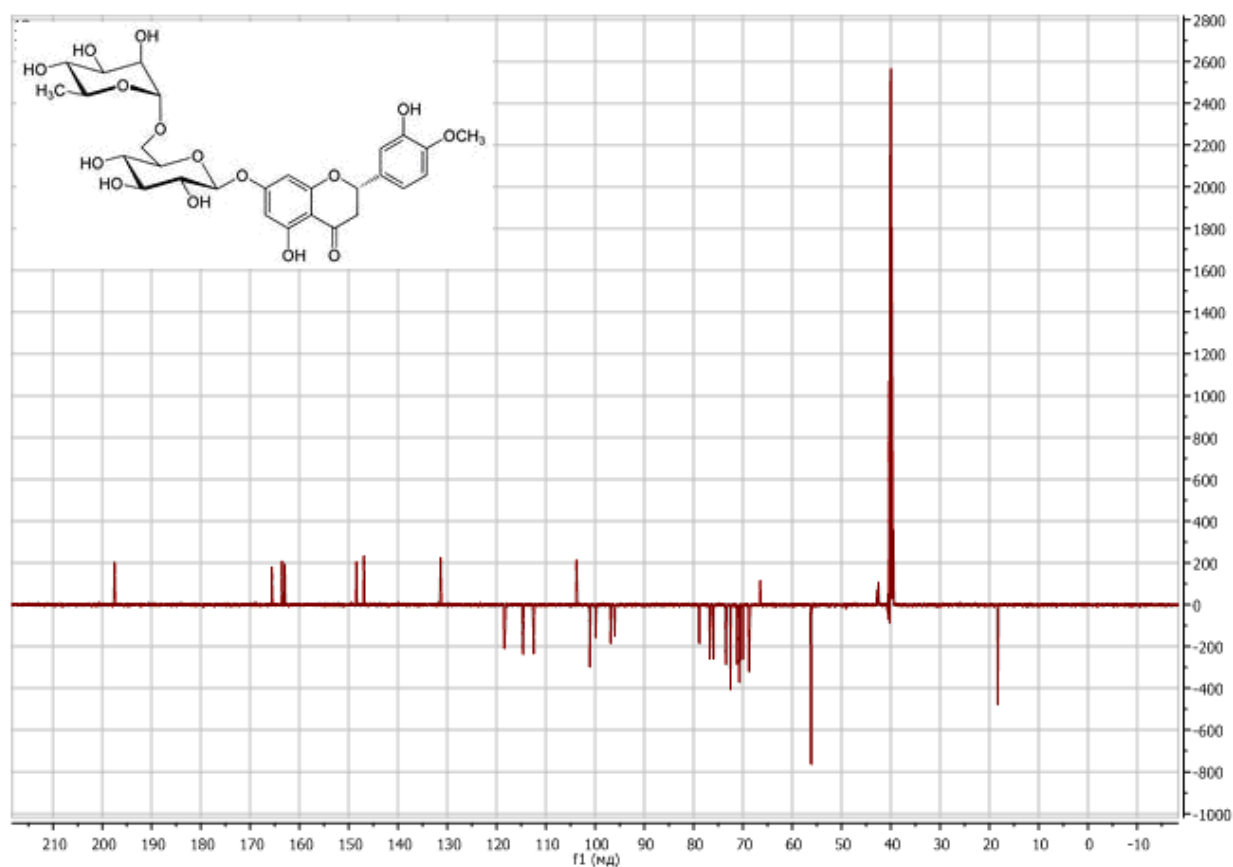


Рисунок 4.2.2.22. ЯМР- ^{13}C -спектр выделенного гесперидина

Вещество 15 представляет собой кристаллический порошок бурого цвета, хорошо растворимый в метиловом и этиловом спирте. УФ: λ_{max} (EtOH) $_{\text{нм}}$: 290. С + AlCl_3/HCl батохромного сдвига не дает. $T_{\text{пл}}$: 212-215°C.

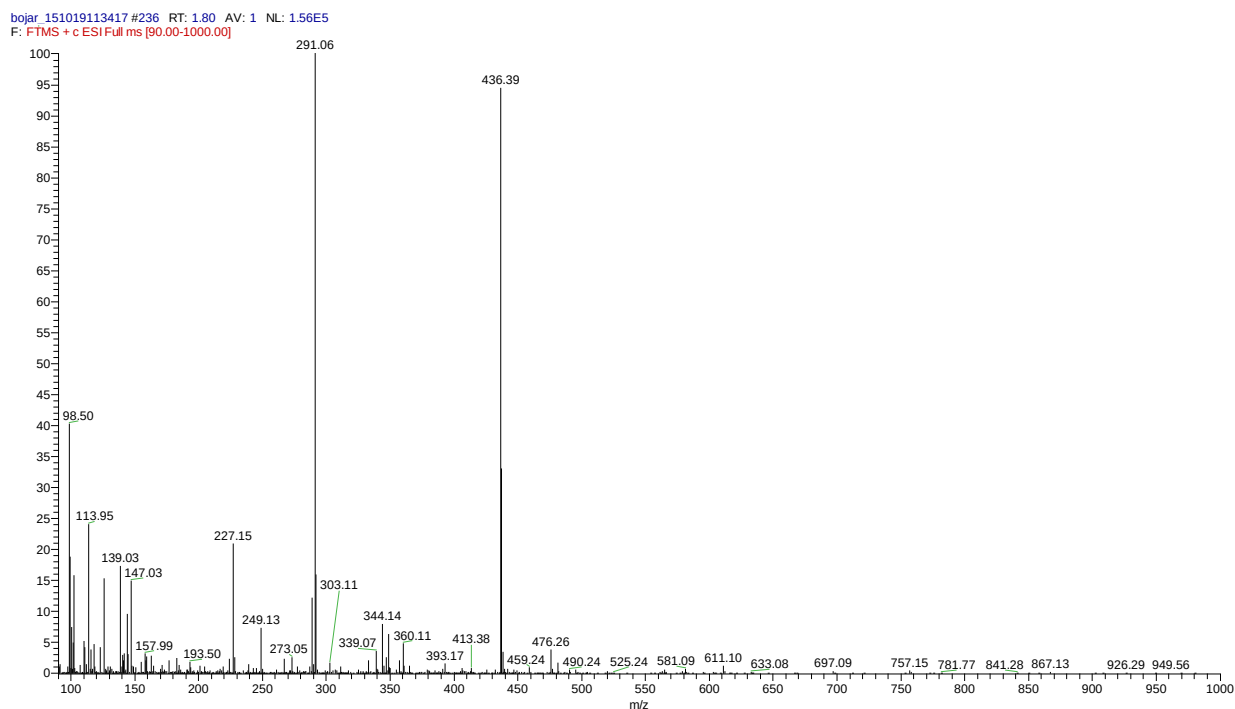


Рисунок 4.2.2.23. Масс-спектр выделенного (+) - катехина

Данные УФ-, масс-спектров (рисунок 4.2.2.23) и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 15* является *катехином*.

Вещество 16 представляет собой аморфное соединение бурого цвета, хорошо растворимое в воде, в метиловом и этиловом спирте. УФ: λ_{max} (EtOH)нм: 279. С + AlCl_3/HCl батохромного сдвига не дает.

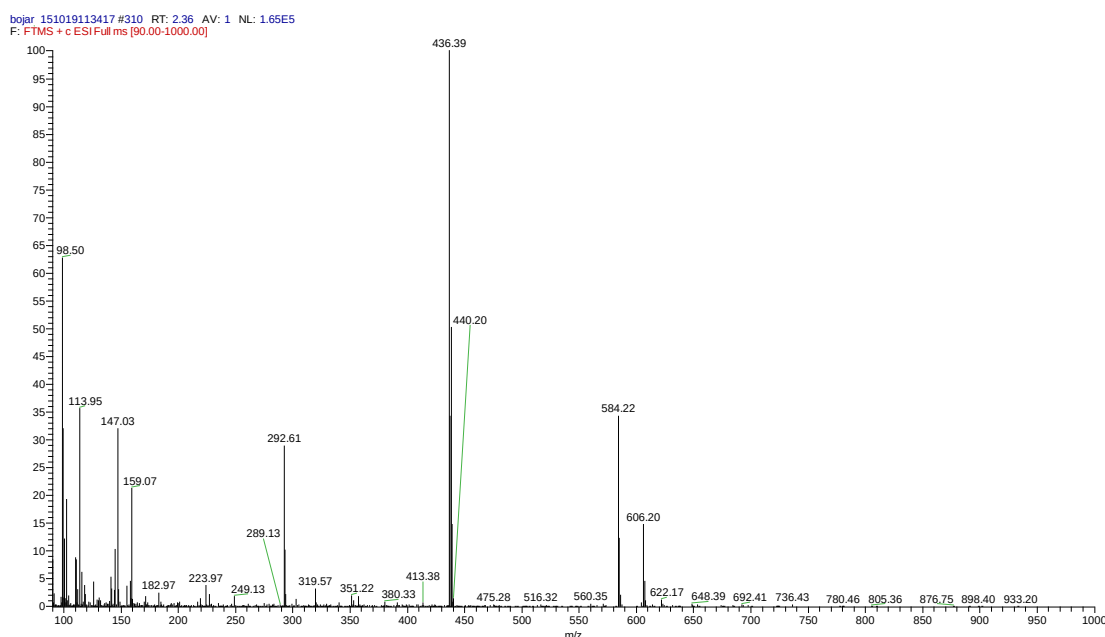
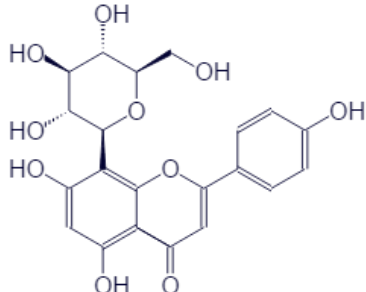
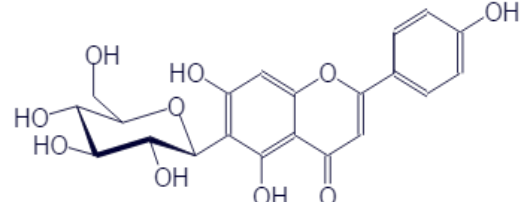
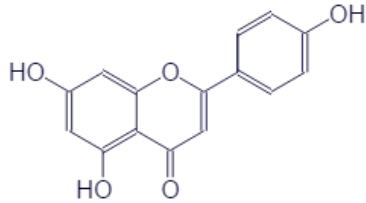
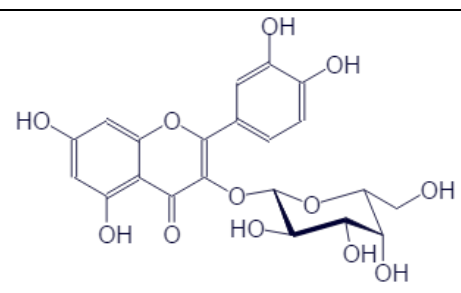
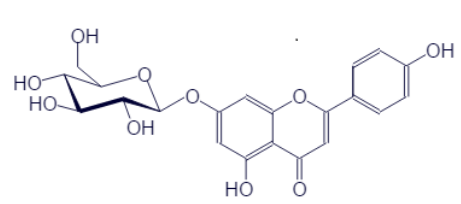


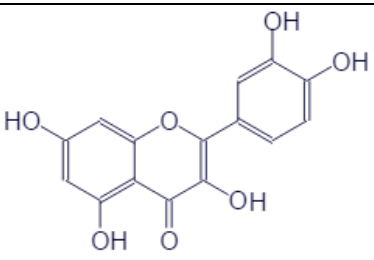
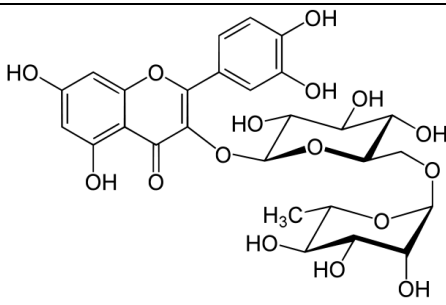
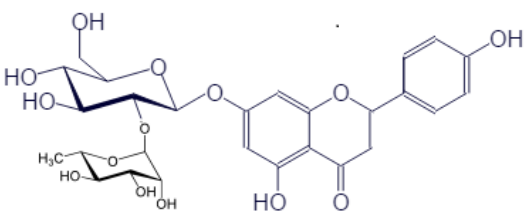
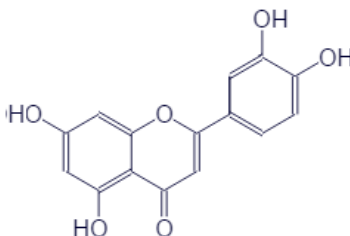
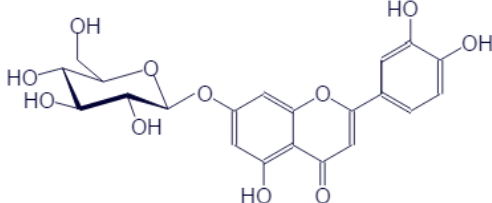
Рисунок 4.2.2.24. Масс-спектр выделенного процианидина

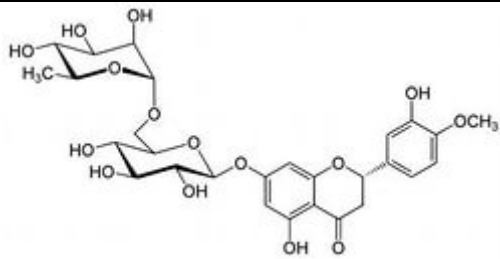
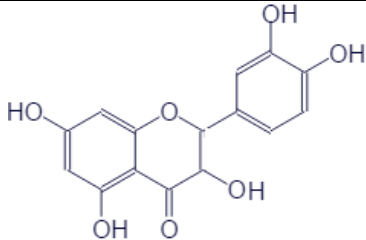
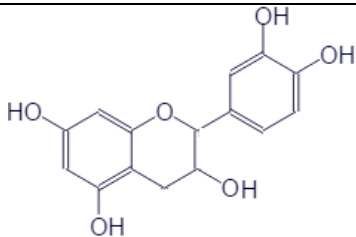
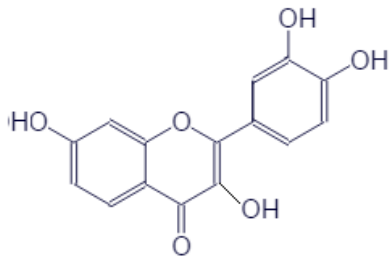
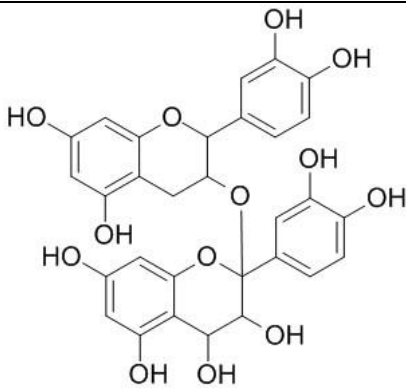
Данные УФ-, масс-спектров (рисунок 4.2.2.24) и сравнение физико-химических констант позволило утверждать, что *вещество 16* является *процианидином*.

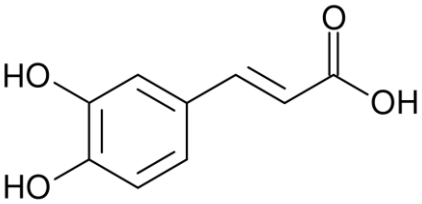
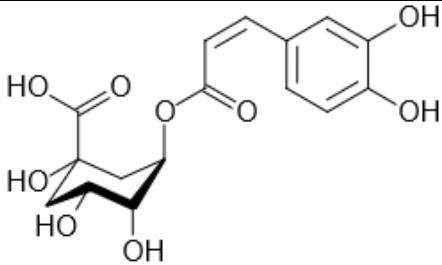
Спектральные и физико-химические константы всех выделенных соединений приведены в таблице 4.2.2.1.

Таблица 4.2.2.1 - Физико-химические характеристики соединений, выделенных из листьев боярышника кроваво-красного

№п/п	Название, химическая формула	Брутто- формула	λ_{max} (EtOH)нм	Температура плавления
1.	 Витексин	$C_{21}H_{20}O_{10}$	271, 332 + AlCl ₃ /HCl: 304, 396	263-265°C
2.	 Изовитексин	$C_{21}H_{20}O_{10}$	271, 336 + AlCl ₃ /HCl: 302, 397	265-267°C
3.	 Апигенин	$C_{15}H_{10}O_5$	271, 335 + AlCl ₃ /HCl: 278, 382	341-343°C
4.	 Гиперозид	$C_{21}H_{20}O_{12}$	258, 267, 300 _{пл} , 363; + AlCl ₃ /HCl: 278, 412	238-240°C
5.	 Космосин	$C_{21}H_{20}O_{10}$	272, 336; + AlCl ₃ /HCl: 294, 385	227-229°C

6.	 Кверцетин	$C_{15}H_{10}O_7$	255, 281, 370 + $AlCl_3/HCl$: 292; 422	307-309°C
7.	 Рутин	$C_{27}H_{30}O_{16}$	258, 267, 300пл, 353 + $AlCl_3/HCl$: 279, 409	194-196°C
8.	 Нарингин	$C_{27}H_{32}O_{14}$	284, 333 + $AlCl_3/HCl$: 306, 383	173-175°C
9.	 Лютеолин	$C_{15}H_{10}O_6$	255, 267, 294пл, 351 + $AlCl_3/HCl$: 279, 398	330-332°C
10.	 Лютеолин-7-гликозид	$C_{21}H_{20}O_{11}$	255, 269, 353 + $AlCl_3/HCl$: 278, 395	247-249°C

11.	 Гесперидин	$C_{28}H_{34}O_{15}$	284, 330 + $AlCl_3/HCl$: 306, 388	252-254°C
12.	 Дигидрокверцетин	$C_{15}H_{12}O_7$	291, 335 + $AlCl_3/HCl$: 245, 316, 382	225-227°C
13.	 Катехин	$C_{15}H_{14}O_6$	280	212-215°C
14.	 Физетин	$C_{15}H_{10}O_6$	258, 267, 321, 370 + $AlCl_3/HCl$: 232, 277, 431	350-352°C
15.	 Процианидин	$C_{30}H_{26}O_{13}$	279	-

16.	 Кофейная кислота	$C_9H_8O_4$	243, 327 + $AlCl_3/HCl$: 261, 379	195-197°C
17.	 Хлорогеновая кислота	$C_{16}H_{18}O_9$	281, 328 + $AlCl_3/HCl$: 279, 395	208-210°C

На основании проведенных исследований выделено 14 флавоноидов, 2 гидроксикоричные кислоты, процианидин. Впервые из листьев боярышника кроваво-красного выделены изовитексин, физетин, дигидрокверцетин, нарингин, гесперидин, кофейная и хлорогеновая кислоты.

Выводы по главе 4

1. В ходе морфолого-анатомических исследований уточнены морфологические и анатомо-диагностические признаки листьев боярышника кроваво-красного. Выявлены новые анатомо-диагностические признаки листьев боярышника кроваво-красного - четковидные утолщения клеток эпидермиса верхней стороны листа; волоски прикрепляются в центре розетки клеток, которая, а также окружающие ее клетки эпидермы, имеют бурый цвет; призматические кристаллы оксалата кальция образуют кристаллоносную обкладку вдоль сосудов. Впервые определены анатомические признаки черешка листа и прилистников. Выделены анатомические диагностически-значимые признаки листьев боярышника кроваво-красного для разработки показателя доброкачественности.
2. При проведении качественных реакций в листьях боярышника кроваво-красного установлено присутствие флавоноидов, кумаринов, конденсированных дубильных соединений, сапонинов, аскорбиновой кислоты, полисахаридов, эфирных масел.
3. С использованием современных фитохимических, хроматографических (ТСХ, ВЭЖХ, ГХ), спектроскопических методов анализа исследован химический состав листьев боярышника кроваво-красного. Всего идентифицировано 70 веществ, из них фенольных соединений – 21. В листьях боярышника кроваво-красного методом ТСХ и ВЭТСХ идентифицированы рутин, гиперозид, хлорогеновая кислота. Методом ВЭЖХ обнаружено 18 соединений, из которых идентифицированы рутин, байкалеин, физетин, дигидрокверцетин. Методом ГХ/МС установлено присутствие 31 соединения, из которых идентифицированы 6 веществ, 4 из них - соединения фенольной природы: кумаран, α -гидрохинон, пирокатехин и хинная кислота. В эфирном масле выявлено 44 соединения, из которых идентифицировано 18. В липофильной фракции обнаружено 72 соединения, из которых идентифицированы по сравнению с библиотечными масс-спектрами 19 веществ. Методами ВЭЖХ и ГЖХ установлен качественный состав полисахаридов и моносахаридов полисахаридного комплекса. В полисахаридном комплексе определено содержание уроновых кислот.

4. Из листьев боярышника кроваво-красного колоночной хроматографией выделено и с использованием ТСХ, УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии, температуры плавления установлена структура 17 фенольных соединений: витексина, изовитексина, кверцетина, космосиина, гиперозида, апигенина, физетина, катехина, ди-гидрокверцетина, рутина, лютеолина, цинарозида, гесперидина, нарингина, процианидина, кофейной и хлорогеновой кислот.

ГЛАВА 5. ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СБОРОВ

«КАРДИОФИТ-ИБС» И «АНГИОФИТ-НМК»

5.1. Морфолого-анатомическое исследование сборов

«Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»

Сборы «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» готовили в соответствии со статьей «Сборы» [56]. Каждый вид сырья измельчали по отдельности. После измельчения пыль отсеивали сквозь сито с диаметром отверстий 0,18 мм. Затем компоненты, входящие в состав сбора, взвешивали по отдельности и в необходимых весовых пропорциях перемешивали до получения равномерной смеси.

Макроскопический анализ проводили при осмотре составных компонентов аналитической пробы сборов визуально и с помощью лупы ($\times 10$).

♦ Сбор «Кардиофит-ИБС» представляет собой смесь неоднородных по размеру и окраске частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм, серо-зеленого цвета с желтыми, красновато-оранжевыми, буровато-красными, желтовато-розовыми, бледно-желтыми включениями, с цельными плодами тмина, цветками донника лекарственного, золототысячника лекарственного и полыни обыкновенной, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм. Запах ароматный, своеобразный; вкус водного извлечения горьковато-сладкий.

Сбор «Ангиофит-НМК» представляет собой смесь неоднородных, различных по размеру и по окраске серых войлочных, зеленовато-серых, зеленых и желто-коричневых частиц с вкраплениями красноватого и бурого цвета с цельными цветками ромашки аптечной, донника лекарственного и полыни обыкновенной, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм. Запах ароматный, вкус водного извлечения сладковато-горький.

При макроскопическом анализе сборов были обнаружены растительные элементы, отвечающие по своим диагностическим признакам видам сырья, описанным в частных статьях ГФ XI и других НД [37, 55, 57, 230, 231, 232, 233, 234].

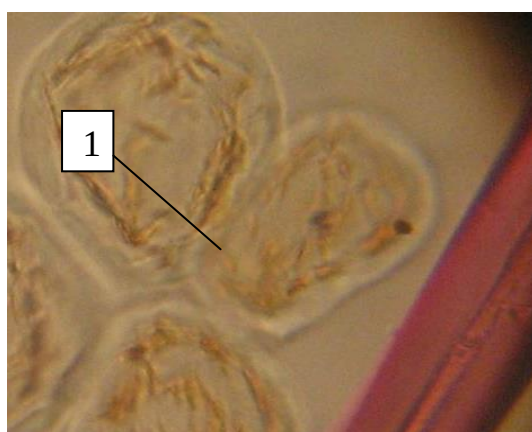
Микроскопический анализ компонентов сборов проводили под микроскопом, предварительно подготовив временные микропрепараты (глава 2., п.2.2.1.).

При микроскопическом анализе сборов были обнаружены анатомо-диагностические признаки, отвечающие по своим диагностическим признакам видам сырья, описанным в частных статьях ГФ XI и других НД [37, 55, 57, 230, 231, 232, 233, 234].

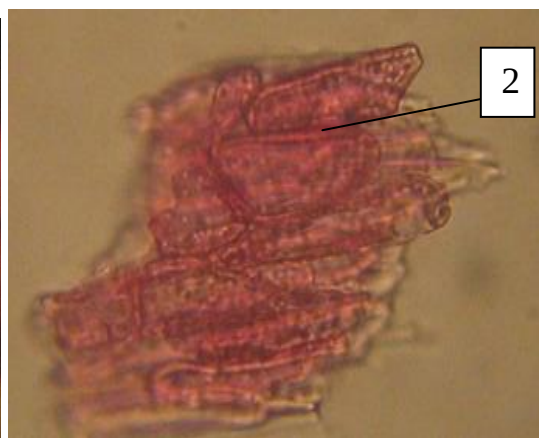
На основании проведенных микроскопических исследований сбора «Кардиофит-ИБС» были выявлены следующие ДЗП:

- в плодах боярышника - четырех-, шестиугольные клетки эпидермиса с желто-бурым содержимым; округлые или овальные клетки мякоти, содержащие включения оранжево-красного или буровато-желтого цвета (каротиноиды); в коллатеральных пучках мякоти встречаются одиночные склереиды, каменистые клетки и кристаллоносная обкладка (рисунок 5.1.1);
- в траве пустырника - желёзки на короткой ножке с 2-4 выделительными клетками; волоски трех типов: многочисленные длинные многоклеточные, грубо-бородавчатые, расширенные в местах соединения клеток; волоски, согнутые по краю листа; мелкие головчатые волоски на одно-двуклеточной короткой ножке с округлой головкой (рисунок 5.1.2);
- в соплодиях хмеля на внутреннем эпидермисе - сильноизвилистые клетки, блюдцевидные железки, одноклеточные волоски (рисунок 5.1.3);
- в листьях мяты перечной - клетки с сильноизвилистыми стенками, устьичный аппарат диацитного типа, мелкие головчатые волоски, состоящие из короткой одноклеточной ножки и одноклеточной обратнойцевидной головки, крупные эфиромасличные железки с 8 (редко 6) выделительными клетками (рисунок 5.1.4);
- в траве донника - многоугольные клетки верхнего эпидермиса и сильно извилистые - нижнего; устьичный аппарат аномоцитного типа; кристаллоносная обкладка сосудов; простые волоски одноклеточные тонкостенные и зазубренным краем; головчатые волоски на 1-2 клеточной ножке с 1-4 клеточной головкой с прозрачным или светло-бурым содержимым (рисунок 5.1.5);

- в корневищах и корнях девясила - крупные округлые или овальные со слоем выделительных клеток схизогенные вместилища (со смолой и эфирным маслом) (рисунок 5.1.6);
- в плодах аронии черноплодной - клетки окончательного типа, каменистые клетки, желтоватые хромопласты (рисунок 5.1.7);
- в траве золототысячника - клетки эпидермиса с извилистыми стенками и складчатой кутикулой, устьичный аппарат анизоцитного типа, иногда встречаются крестообразно сросшиеся кристаллы (рисунок 5.1.8);
- в листьях земляники лесной - ромбические кристаллы вдоль главных жилок и многочисленные волоски двух типов: головчатые железистые и простые одноклеточные остроконечные с расширенным основанием (рисунок 5.1.9);
- в траве Melissa лекарственной - эфиромасличные железки, состоящие из 8 радиально расположенных выделительных клеток; головчатые и простые волоски; сосочковидные и конусовидные волоски с бородавчатой кутикулой; устьичный аппарат диацитного типа (рисунок 5.1.10);
- в траве полыни обыкновенной - многочисленные простые волоски с тонкими стенками, у основания с 1-2 короткими клетками и длинной конечной клеткой и эфиромасличные железки (рисунок 5.1.11);
- в столбиках с рыльцами кукурузы - многоклеточные ворсинки вдоль вытянутых клеток эпидермиса с прямыми стенками (рисунок 5.1.12);
- в плодах рябины - клетки с каротиноидами и одноклеточные волоски, встречаются каменистые клетки различные по форме и размеру (рисунок 5.1.13);
- в плодах тмина - эфиромасличные каналы и капли жирного масла (рисунок 5.1.14).



Ув. 10×40



Ув.10×40

Рисунок 5.1.1. Клетки с каротиноидами (1), каменистые клетки с окончатыми утолщёнными стенками (2) в плодах боярышника.

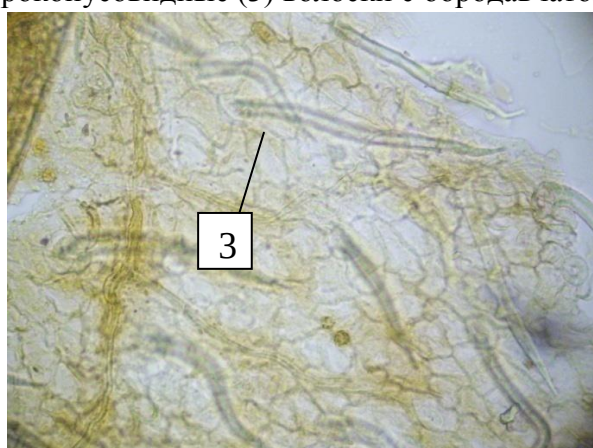


Ув. 20×40

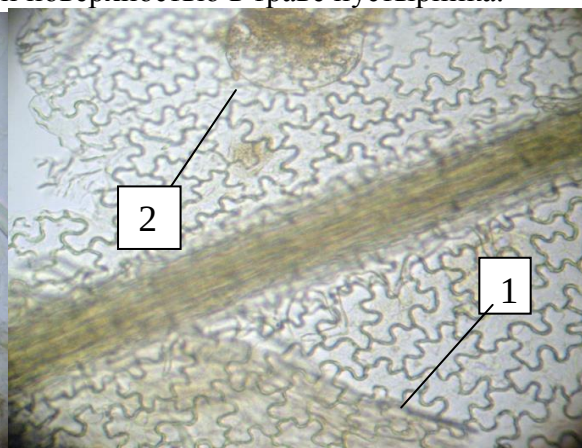


Ув.20×10

Рисунок 5.1.2. Эфиромасличные железы (1), головчатые (2) и простые многоклеточные остроконусовидные (3) волоски с бородавчатой поверхностью в траве пустырника.

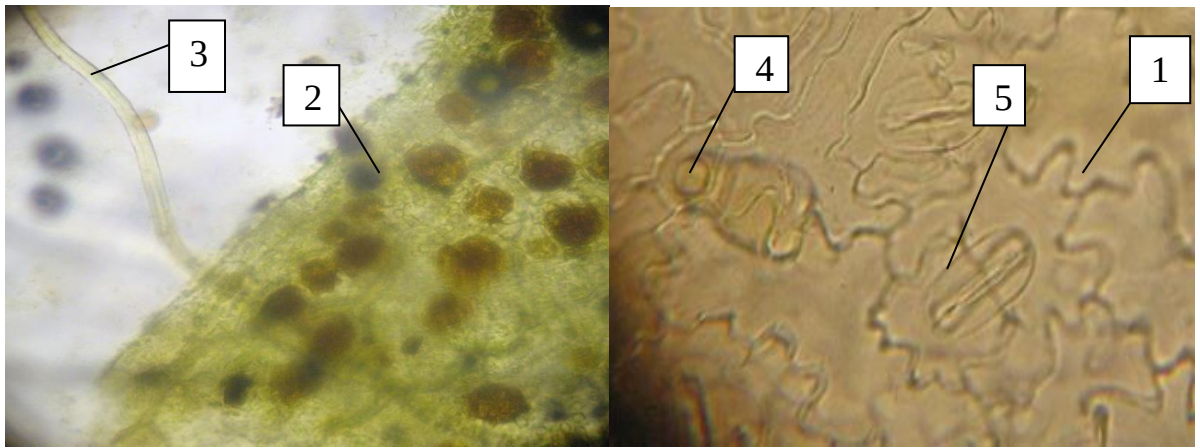


Ув. 10×40



Ув.10×40

Рисунок 5.1.3. Сильноизвилистые стенки клеток внутреннего эпидермиса (1), блюдцевидные железы (2), простые одноклеточные остроконусовидные волоски (3) в соплодиях хмеля.



Ув. 10×10

Ув.10×40

Рисунок 5.1.4. Слабоизвилистые стенки клеток верхнего эпидермиса (1), эфиромасличные железы (2), простые (3) и головчатые волоски с одноклеточной ножкой и одноклеточной обратнойцевидной головкой (4), устьичный аппарат диацитного типа (5) в листьях мяты перечной.



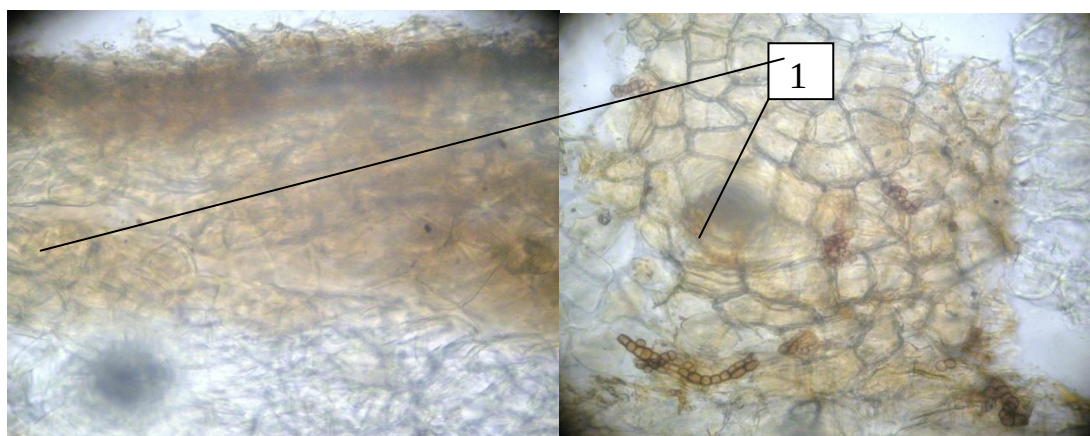
Ув. 10×10

Ув.10×40

Ув.10×40

Ув.10×40

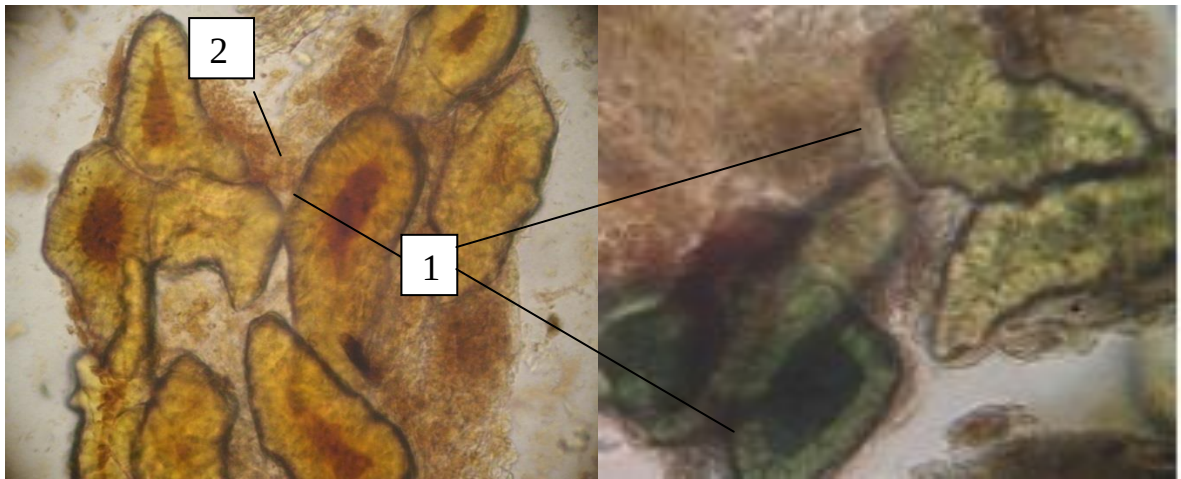
Рисунок 5.1.5. Многоугольные клетки верхнего эпидермиса (1) и устьичный аппарат анномоцитного типа (2), кристаллоносные обкладки сосудов (3), простые волоски 1-2 клеточные у основания и одноклеточная конечная с толстостенной оболочкой и зазубренным краем (4); головчатые волоски на 1-2 клеточной ножке и 1-2 клеточной головкой (5) в траве донника.



Ув. 10×10

Ув.10×40

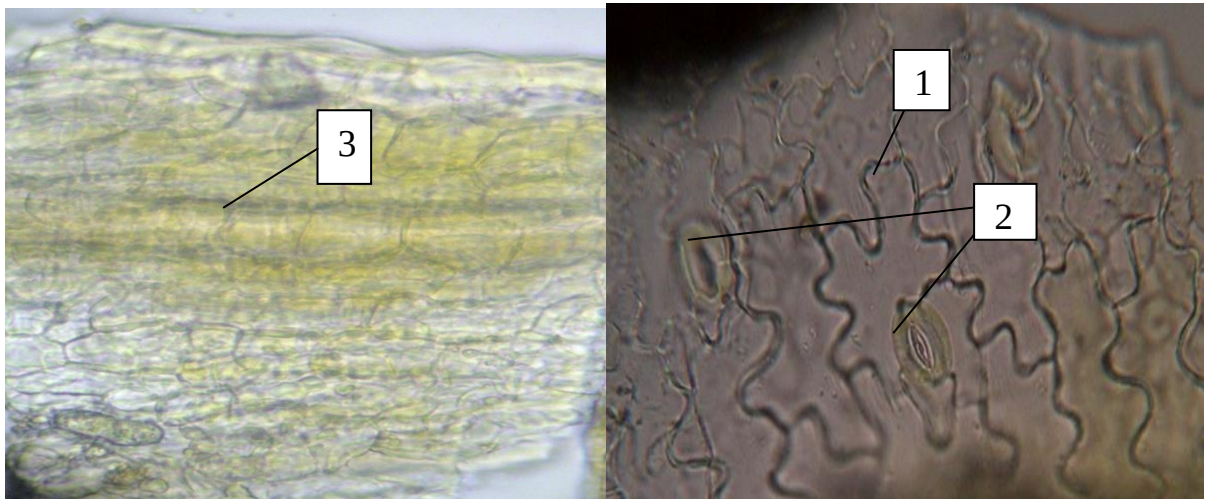
Рисунок 5.1.6. Вместилища со смолой и эфирным маслом (1) в корневищах и корнях дёвяссила.



Ув. 10×40

Ув. 10×40

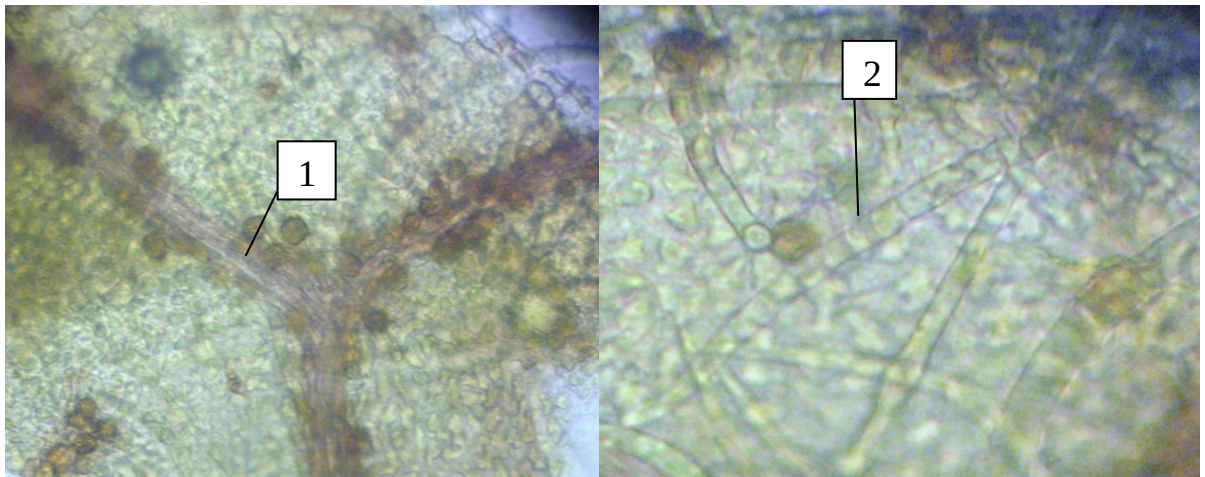
Рисунок 5.1.7. Каменистые клетки (1), желтоватые хромопласты (2) в плодах аронии черноплодной



Ув. 10×10

Ув. 10×40

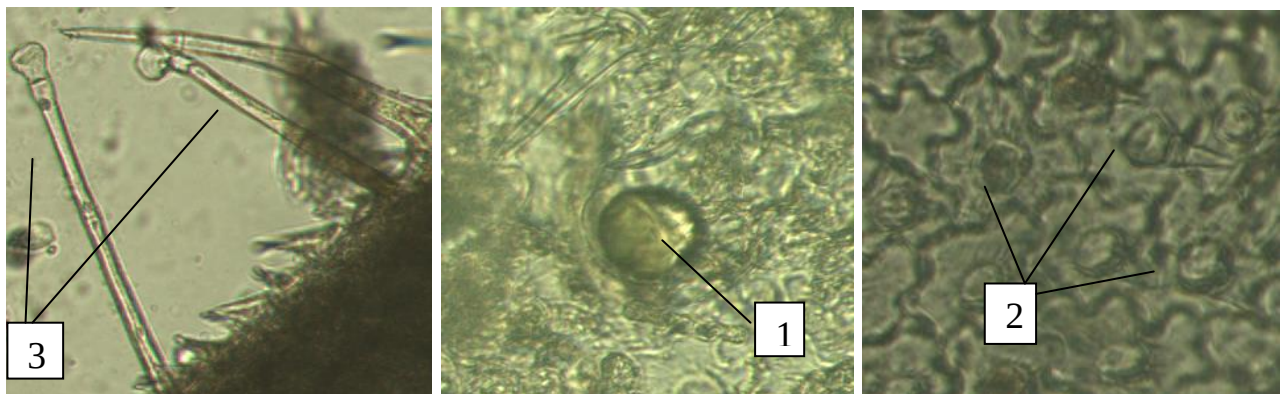
Рисунок 5.1.8. Клетки с сильноизвилистыми стенками нижнего эпидермиса (1), устьичный аппарат анизокитного типа (2), кристаллоносная обкладка вдоль проводящей системы (3) в траве золототысячника.



Ув. 10×10

Ув. 10×40

Рисунок 5.1.9. Ромбические кристаллы (1) вдоль главных жилок и простые остроконечные волоски (2) в листьях земляники лесной.

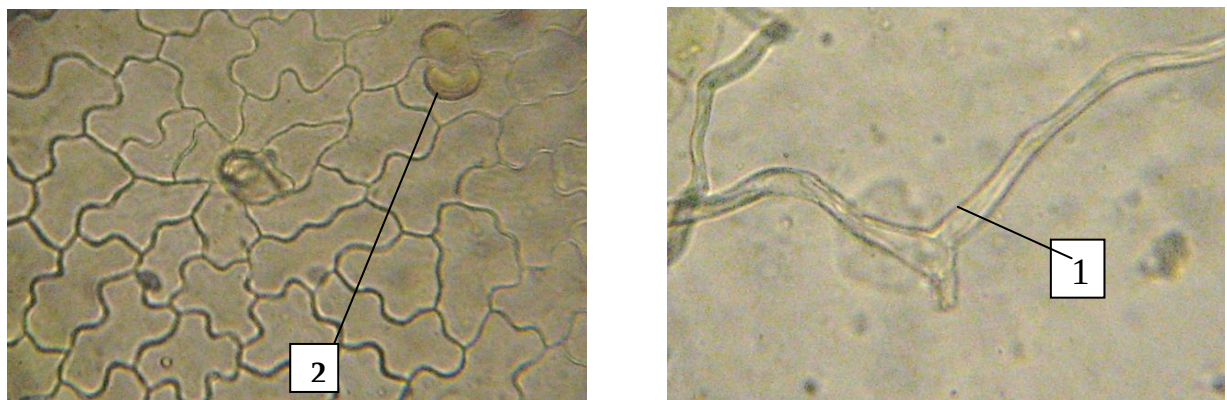


Ув. 20×10

Ув. 20×40

Ув. 20×80

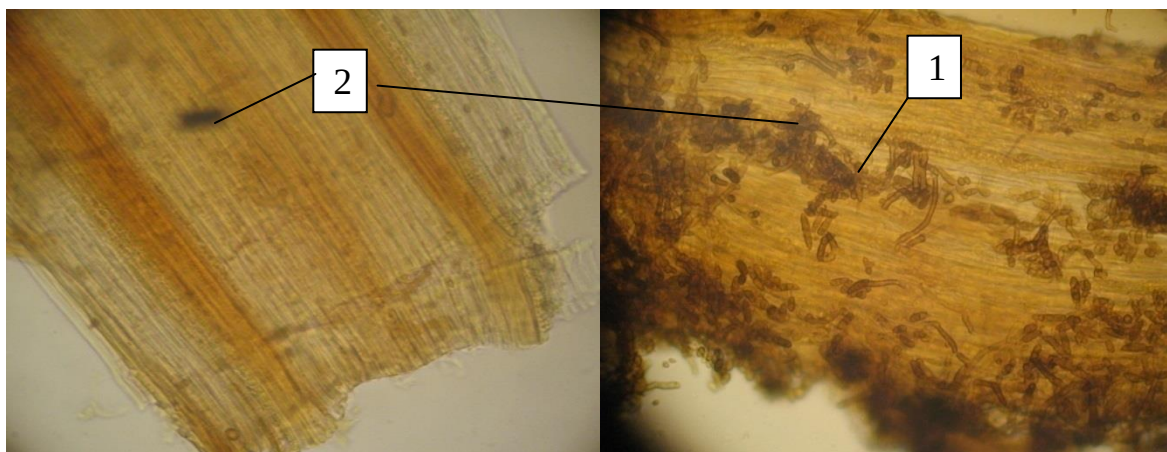
Рисунок 5.1.10. Эфиромасличные железы (1), конусовидные (2) и головчатые (3) волоски, устьичный аппарат диацитного типа (4) в траве мелиссы лекарственной.



Ув. 10×40

Ув. 10×40

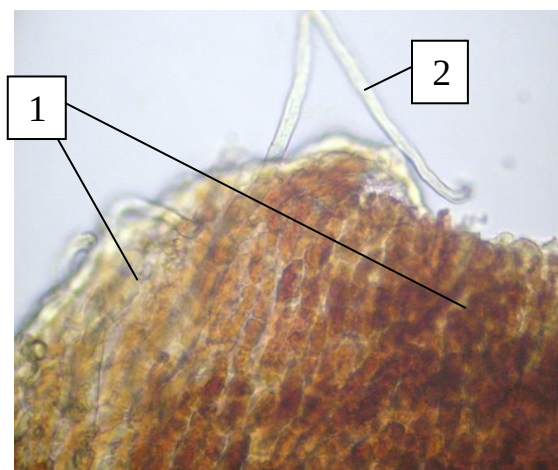
Рисунок 5.1.11. Простые волоски с тонкими стенками, у основания с 1-2 короткими клетками и длинной конечной клеткой (1) и эфиромасличные железы (2) в траве полыни обыкновенной.



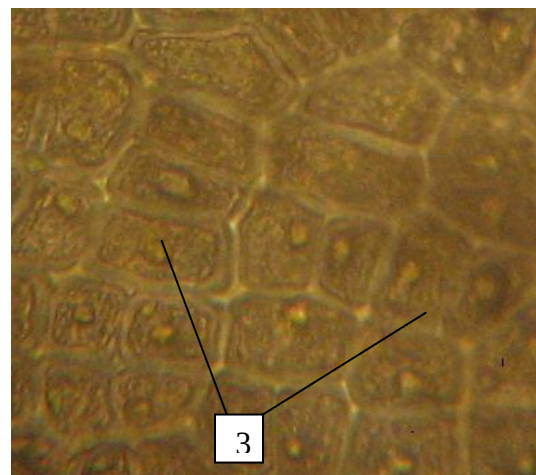
Ув. 10×4

Ув. 10×10

Рисунок 5.1.12. Многоклеточные ворсинки (1) вдоль вытянутых клеток (2) эпидермиса в столбиках с рыльцами кукурузы.



Ув. 10×10

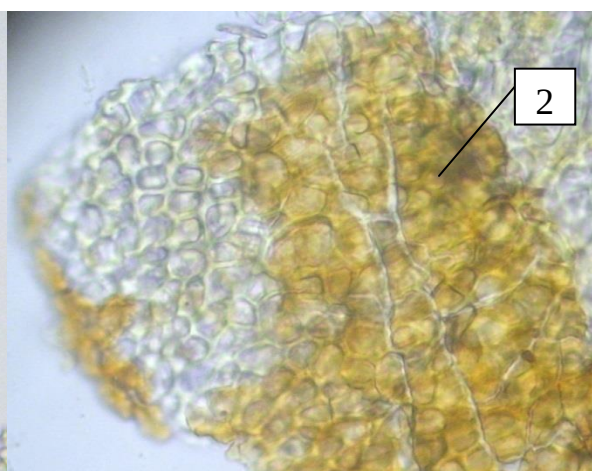


Ув. 10×40

Рисунок 5.1.13. Клетки с каротиноидами (1), одноклеточные волоски (2) и наружный эпидермис с окончатými клетками в плодах рябины.



Ув. 10×10



Ув. 10×40

Рисунок 5.1.14. Эфиромасличные каналы (1) и капли жирного масла (2) в плодах тмина.

В сборе «Ангиофит-НМК» были выявлены следующие ДЗП:

- в плодах боярышника - четырех-, шестиугольные клетки эпидермиса с желто-бурым содержимым; округлые или овальные клетки мякоти, содержащие включения оранжево-красного или буровато-желтого цвета (каротиноиды); встречаются одиночные склереиды, каменистые клетки и кристаллоносная обкладка (рисунок 5.1.1);

- в траве донника - многоугольные клетки верхнего эпидермиса и сильно-извилистые - нижнего; устьичный аппарат аномоцитного типа; кристаллоносная обкладка сосудов; простые волоски одноклеточные тонкостенные и зазубренным краем, головчатые волоски на 1-2 клеточной ножке с 1-4 клеточной головкой с прозрачным или светло-бурым содержимым (рисунок 5.1.5);

- в плодах рябины - клетки с каротиноидами и одноклеточные волоски; встречаются каменистые клетки различные по форме и размеру (рисунок 5.1.12);

- в плодах шиповника - тонкостенные паренхимные клетки мякоти с оранжево-красными глыбками каротиноидов; группы, реже одиночные каменистые клетки с сильно утолщенными пористыми оболочками; крупные одиночные волоски двух типов - очень крупные прямые с толстой стенкой и узкой полостью и более мелкие, слегка извилистые с широкой полостью (рисунок 5.1.15);

- в траве барвинка малого - эпидермис листа с прямоугольными (черешок), извилистыми и сильноизвилистыми стенками и четковидными утолщениями; устьичный аппарат парацитного типа; волоски одноклеточные толстостенные, остроконечные (рисунок 5.1.16);

- в траве сушеницы топяной - обрывки листа и эпидермиса листа (слегка извилистые и сильноизвилистые клетки; крупные, овальные, погруженные устьица (аномоцитный тип); простые волоски с тонкими стенками с 1-3 базальными клетками и длинной извилистой конечной клеткой и головчатые волоски, состоящие из одноклеточной ножки и многоклеточной удлинено-овальной головки, которые располагаются в один или два ряда (рисунок 5.1.17);

- в траве полыни обыкновенной - многочисленные простые волоски с тонкими стенками, у основания с 1-2 короткими клетками и длинной конечной клет-

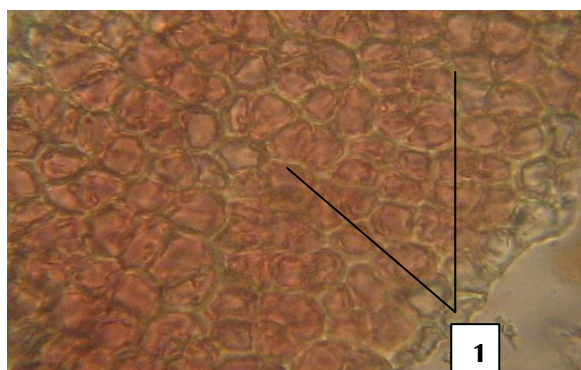
кой; крупные эфиромасличные железы (рисунок 5.1.11);

- в листьях подорожника большого - клетки эпидермиса многоугольные с прямыми стенками или слабоизвилистые; простые волоски с расширенным основанием, многоклеточные, гладкие; головчатые волоски двух типов: на одноклеточной ножке с удлинённой двухклеточной головкой, реже встречаются головчатые волоски на многоклеточной ножке с шарообразной или овальной одноклеточной головкой. В местах прикрепления волосков клетки эпидермиса образуют розетку (рисунок 5.1.18);

- в листьях мяты перечной - клетки с сильноизвилистыми стенками; устьичный аппарат диацитного типа; мелкие головчатые волоски, состоящие из короткой одноклеточной ножки и одноклеточной обратнойцевидной головки; крупные эфиромасличные железы с 8 (редко 6) выделительными клетками (рисунок 5.1.4);

- в цветках ромашки - клетки эпидермиса с извилистыми стенками и сочковидными выростами; эфирномасличные железы из 6-8 клеток (рисунок 5.1.19);

- в корнях солодки - обрывки паренхимы с друзами оксалата кальция; обрывки волокон с кристаллоносной обкладкой из призматических кристаллов; обрывки сетчатых и лестничных сосудов и узких пористых трахеид; обрывки трахеид с окаймленными порами (рисунок 5.1.20).

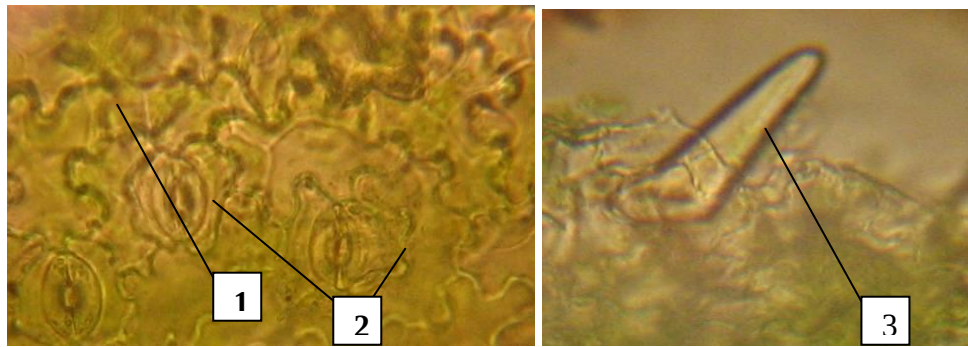


Ув. 10×40



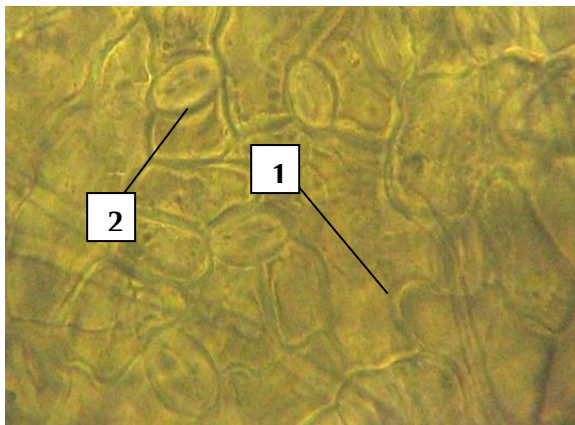
Ув. 10×10

Рисунок 5.1.15. Многоугольные клетки эпидермиса с прямыми неодинаково утолщенными, с четковидно-утолщенными стенками (1), простые одноклеточные толстостенные волоски (2), друзы оксалата кальция (3) в плодах шиповника.

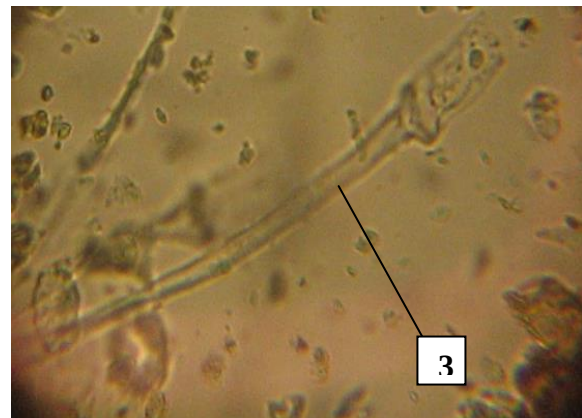


Ув.10×40

Рисунок 5.1.16. Клетки нижнего эпидермиса с четковидными утолщениями (1), устьичный аппарат паразитного типа (2) и простой одноклеточный волосок (3) в траве барвинка малого.

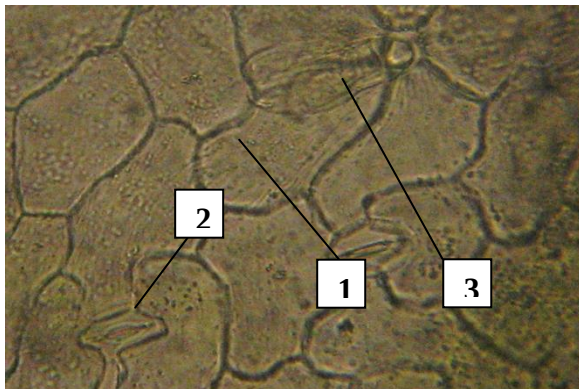


Ув. 10×40

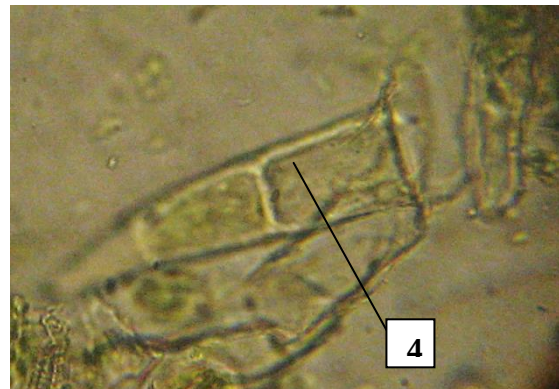


Ув.10×40

Рисунок 5.1.17. Слегка извилистые клетки нижнего эпидермиса (1), устьичный аппарат аномоцитного типа (2), простой волосок с тонкой стенкой с 1-3 базальными клетками и длинной конечной клеткой (3) в траве сушеницы топяной.



Ув. 10×40



Ув.10×40

Рисунок 5.1.18. Слабоизвилистые клетки нижнего эпидермиса, кутикула местами образует складки (1); устьичный аппарат аномоцитного типа (2), головчатый волосок на одноклеточной ножке с удлиненной двухклеточной головкой (3), простой многоклеточный волосок (4) в листьях подорожника большого.

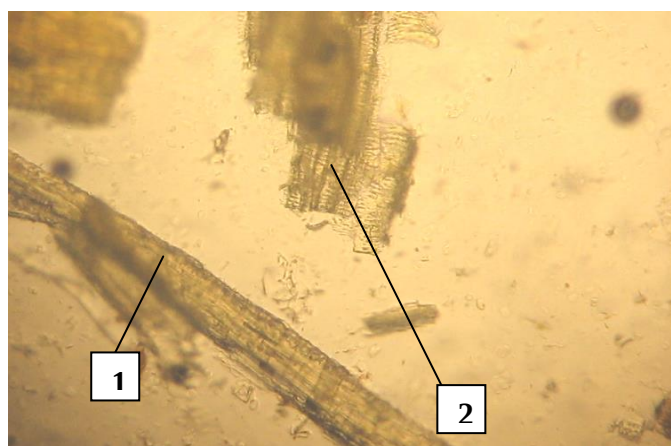


Ув. 10×4



Ув.10×40

Рисунок 5.1.19. Трубчатый цветок (1), эфиромасличные железки на основании ложноязычкового цветка (2) ромашки аптечной.



Ув.10×10

Рисунок 5.1.20. Обрывки волокон с кристаллоносной обкладкой из призматических кристаллов (1), обрывки сетчатых сосудов (2) в корнях солодки.

Выявленные ДЗП сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» использовались для разработки методики стандартизации по проявляемости ДЗП и расчета индексов участия компонентов сборов (глава 6, п.6.3.).

5.2. Фитохимическое изучение сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»

Лекарственное растительное сырье в исследуемых сборах содержит различные группы БАВ: флавоноиды, дубильные вещества, фенолкарбоновые кислоты, кумарины, витамины, полисахариды, эфирные масла, сапонины, алкалоиды и др. Переходя в водные и в водно-спиртовые извлечения, эти вещества, обладающие разнообразной биологической активностью, обуславливают суммарный эффект и лечебное действие объектов исследования [10, 11, 12, 16, 29, 119, 154, 207]. Разработанные сборы включают 11 и 14 растительных компонентов. С поликомпонентностью состава связаны трудности выбора группы БАВ, позволяющей репрезентативно стандартизировать сборы. Решение этой проблемы невозможно без детального изучения химического состава сборов и выбора приоритетных или специфических маркеров, по которым бы планировалось в дальнейшем проведение стандартизации [9].

В результате проведения качественных реакций (глава 2, п.2.2.3.1.), в различных извлечениях (водных, щелочных, кислотных, спиртовых) сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» были обнаружены различные группы БАВ (таблица 5.2.1).

Таблица 5.2.1 - Качественный анализ сборов

Группа БАВ	Качественная реакция (реагент)	Ожидаемый аналитический эффект	Результат реакции (+) или (-) (экстрагент)	
			Кардиофит-ИБС	Ангиофит-НМК
Флавоноиды	Цианидиновая проба	Красное, красно-оранжевое окрашивание	+	+
	2% спиртовый раствор алюминия хлорида	Желтое окрашивание	+	+
	10% спиртовый	Желтое окра-	+	+

	раствор калия гидроксида	шивание	70% спирт	70% спирт
	1% спиртового раствора железа хлорида	Красновато-бурое окрашивание	+ 70% спирт	+ 70% спирт
Сапонины	Реакция пенообразования	Образование пены в пробирке с извлечением	+ Вода	+ Вода
	Реакция Лафона	Сине-зеленое окрашивание	+ Вода	+ Вода
	Реакция осаждения раствором ацетата свинца	Осадок	+ Вода	+ Вода
Кумарины	Лактонная проба	Желтое окрашивание => помутнение раствора и выпадение осадка	+ 95% спирт	+ 95% спирт
	Диазореакция	Вишневое или кроваво-красное окрашивание	+ 95% спирт	+ 95% спирт
Дубильные вещества: -гидролизуемые -конденсированные	Раствор железисто-аммонийных квасцов	Черно-синее окрашивание или осадок	-	-
		Черно-зеленое окрашивание или осадок	+ Вода	+ Вода
Полисахариды	Реакция осаждения этиловым спиртом 95%	Хлопьевидные сгустки =>осадок	+ Вода	+ Вода

	Реактив Фелинга	Осадок красно-оранжевого цвета	+	+
	Раствор меди сульфата	Синее окрашивание	+	+
Аскорбиновая Кислота	Хроматографический анализ		+	+
Алкалоиды	Раствор танина	Осадок	- 1% раствор хлористоводородной кислоты	+
	Пикриновая кислота	Желтый осадок	- 1% раствор хлористоводородной кислоты	+
	Реактив Зонненштейна	Желтоватый осадок	- 1% раствор хлористоводородной кислоты	+
Хромоны	Кислота серная конц.	Лимонно-желтое окрашивание	- 95% спирт	- 95% спирт
	Концентрированные щелочи	Пурпурно-красное окрашивание	- 95% спирт	- 95% спирт
Антрагликозиды 1,8-диоксиантрахиноны 1,4-диоксиантрахиноны 1,2-диоксиантрахиноны	Реакция Борн-трегера	Окраска аммиачного слоя - вишнево-красная - пурпурная - фиолетовая	- - - 10% спиртовый раствор едкого натра	- - - 10% спиртовый раствор едкого натра

Согласно проведенным качественным реакциям, в сборах «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» установлено наличие полифенольных соединений конденсированной природы, полисахаридов, тритерпеновых сапонинов, флавоноидов, кумаринов, аскорбиновой кислоты. В сборе «Ангиофит-НМК» обнаружены также алкалоиды, так как он содержит в своем составе траву барвинка малого.

Хроматографические и спектральные исследования

С использованием бумажной (БХ) и тонкослойной хроматографии (ТСХ) были исследованы спиртовые извлечения сборов.

Методом ТСХ анализировали извлечения сбора «Кардиофит-ИБС», полученные экстракцией 40%, 70% и 95% этиловым спиртом при соотношении сырья и экстрагента 1:10. При проведении ТСХ были использованы 12 систем растворителей (глава 2, п. 2.2.3.1.). Наилучшее разделение веществ произошло в системе этилацетат - муравьиная кислота - вода (8:1:1). Хроматограммы просматривали при УФ-свете до и после обработки хромогенным реактивом - 5% раствором хлорида алюминия, предварительно высушив их в сушильном шкафу при температуре 105°C в течение 5 минут (глава 2, п.2.2.3.1.). В исследуемом извлечении наблюдали 7 пятен со следующими значениями R_f около: 0,34, 0,51, 0,63, 0,72, 0,87, 0,92, 0,96. Судя по хроматографическому поведению (свечение в УФ-свете и цвету пятен) выявленные вещества относятся к флавоноидным соединениям и оксикоричным кислотам.

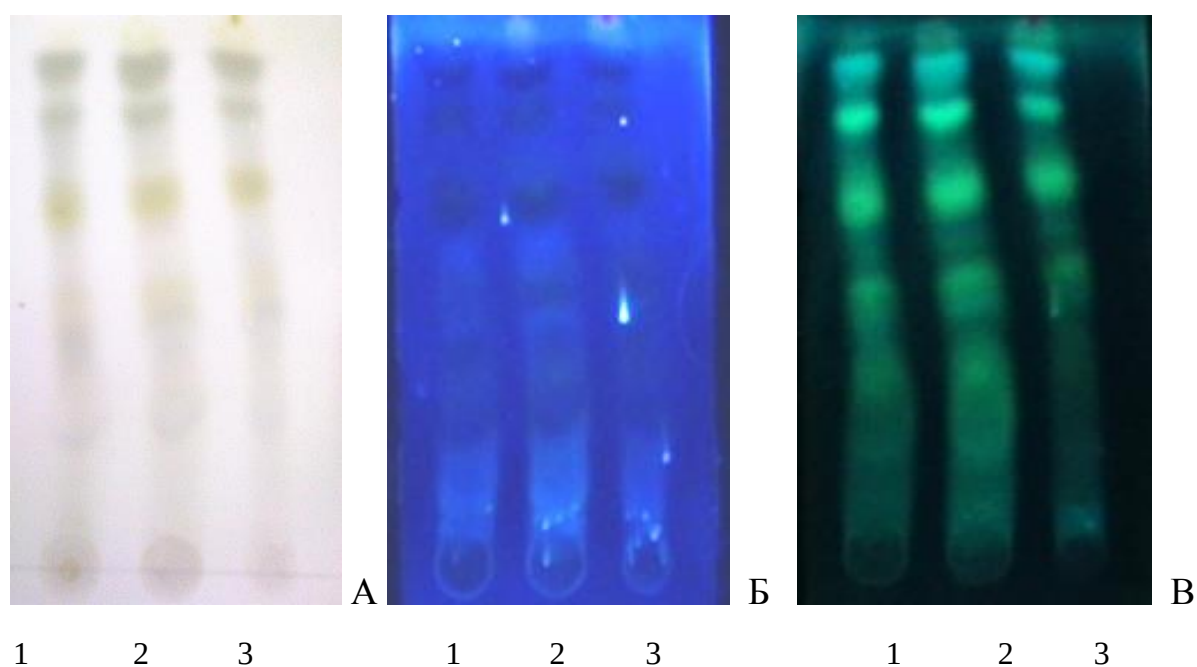


Рисунок 5.2.1. Фотографии хроматограмм спиртовых извлечений из сбора «Кардиофит-ИБС» (А – в видимом свете, Б – до окраски в УФ-свете при 365 нм, В – после окраски хромогенным реактивом в УФ-свете при 365 нм, 1 – извлечение на 40 % этиловом спирте, 2 - извлечение на 70 % этиловом спирте, 3 - извлечение на 95 % этиловом спирте).

Сравнивая полученные хроматограммы, оказалось, что все три извлечения (извлечение на 40 % этиловом спирте, 2 - извлечение на 70 % этиловом спирте, 3 – извлечение на 95 % этиловом спирте) дают примерно одинаковую хроматографическую картину (рисунок 5.2.1).

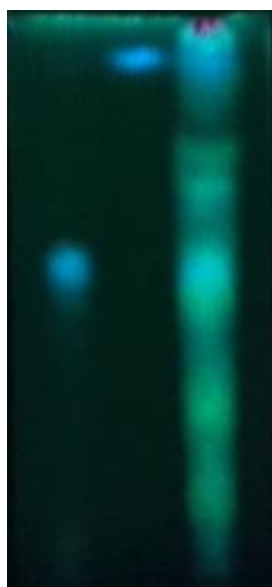
Сравнение со стандартными образцами позволило идентифицировать в сборе рутин, гиперозид, кверцетин и кофейную кислоту.

Данные хроматографические исследования с использованием ТСХ легли в основу разработки методики стандартизации сбора «Кардиофит-ИБС» для включения в проект ФСП в раздел «Качественные реакции» (глава 6, п. 6.3.).

Для хроматографического анализа сбора «Ангиофит-НМК» использовали извлечение, полученное экстракцией 95% этиловым спиртом, которое очищали от липофильных соединений хлороформом, а потом фенольные соединения извлекали последовательно диэтиловым эфиром, этилацетатом и н-бутанолом (глава 2, п. 2.2.3.1.). Исследования проводили с использованием одномерной и круговой БХ и ТСХ в различных системах (глава 2, п. 2.2.3.1.). Хроматограммы проявляли хромогенными реактивами, просматривали в УФ-свете до и после обработки реактивами (глава 2, п. 2.2.3.1.). Хроматограммы просматривали при УФ-свете до и после обработки хромогенным реактивом - 5% раствором хлорида алюминия, предварительно высушив их в сушильном шкафу при температуре 105°C в течение 5 минут (глава 2, п.2.2.3.1.). При использовании ТСХ наилучшее разделение произошло в системе этилацетат-муравьиная кислота-уксусная кислота-вода (100:11:11:13). В исследуемом извлечении наблюдали 6 пятен со следующими значениями R_f около: 0,13; 0,29; 0,53; 0,68; 0,92; 0,96. Судя по хроматографическому поведению (свечение в УФ-свете и цвету пятен) выявленные вещества относятся к флавоноидным соединениям и оксикоричным кислотам. Сравнение со стандартными образцами позволило идентифицировать в сборе рутин, кофейную и хлорогеновую кислоту (рисунок 5.2.2).

При проведении круговой БХ наилучшее разделение флавоноидных соединений произошло в этилацетатной фракции в системе н-бутанол-уксусная кисло-

та-вода (4:1:5). В исследуемой фракции наблюдали 11 пятен со следующими значениями R_f около: 0,51; 0,53; 0,56; 0,58; 0,6; 0,63; 0,66; 0,68; 0,7; 0,75, 0,86. Судя по хроматографическому поведению (свечению в УФ-свете, цвету пятен) выявленные вещества относятся к фенольным соединениям. Сравнения со стандартными образцами позволило дополнительно идентифицировать в сборе кверцетин (рисунок 5.2.3.).



1 2 3

Рисунок 5.2.2. Фотография хроматограммы спиртового извлечения из сбора «Ангиофит-НМК» при 365 нм, 1 – хлорогеновая кислота, 2 – кофейная кислота, 3 - извлечение на 95 % этиловом спирте).

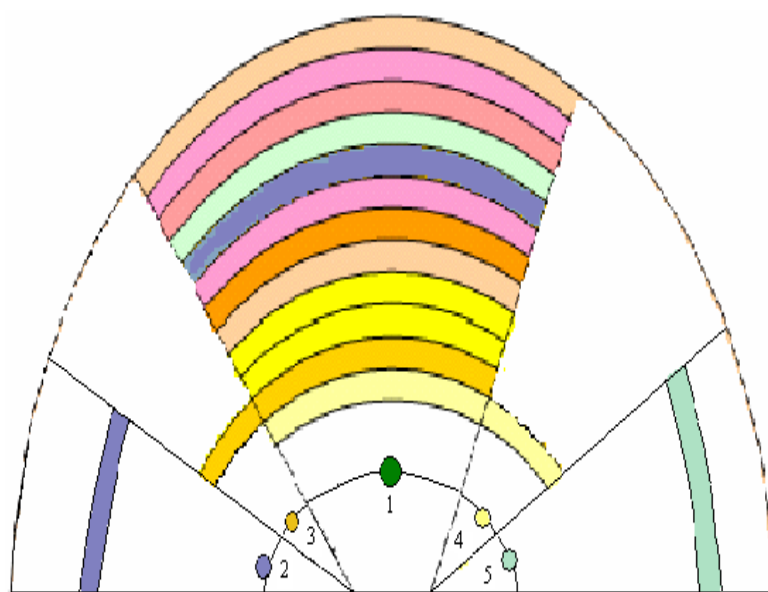


Рисунок 5.2.3. Схема радиальной бумажной хроматограммы в системе н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5) сбора «Ангиофит-НМК»: 1 -этилацетатная фракция сбора; 2 - хлорогеновая кислота; 3 - кверцетин; 4 - рутин; 5 - кофейная кислота

Данные хроматографические исследования с использованием ТСХ легли в основу разрабатываемой методики стандартизации сбора «Ангиофит-НМК» для включения в проект ФСП в раздел «Качественные реакции» (глава 6, п.6.3.).

Хроматоденситометрические исследования

С использованием хроматоденситометра «Сорбфил» версия 2.0. проанализированы спиртовые извлечения сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК».

При хроматоденситометрическом исследовании извлечения сбора «Кардиофит-ИБС», полученного с использованием 40% этилового спирта (1:10), на пластинке «Сорбфил ПТСХ-АФ-А» при 365 нм была получена следующая денситограмма, представленная на рисунке 5.2.4.

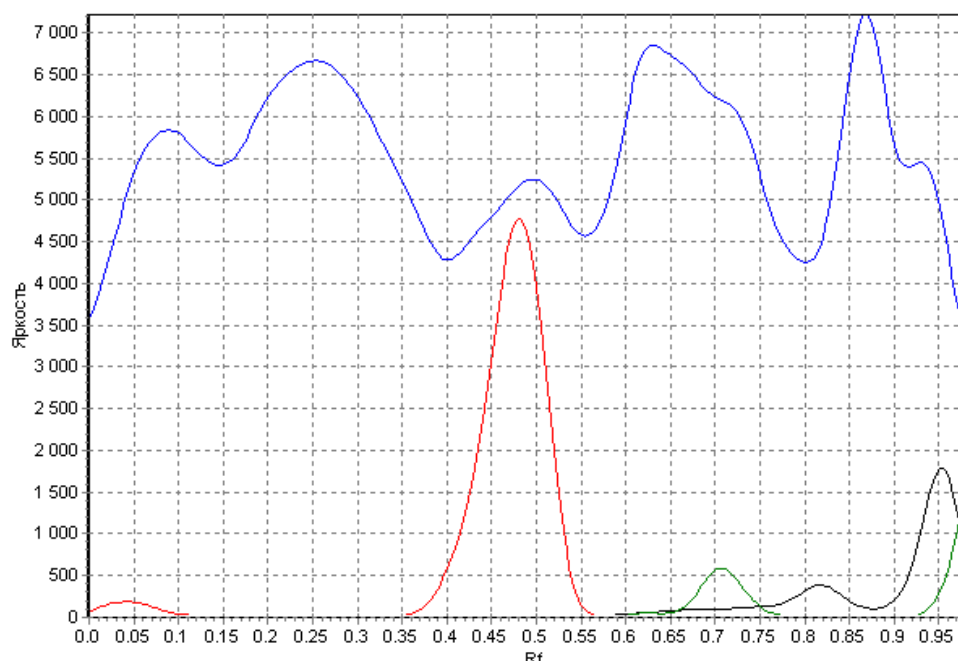


Рисунок 5.2.4. Денситограмма сбора «Кардиофит-ИБС» и свидетелей при 365 нм в системе этилацетат-муравьиная кислота-вода (8:1:1) (синяя линия – сбор «Кардиофит-ИБС», красная линия – рутин, зеленая линия – гиперозид, черная линия - кверцетин).

На денситограмме (синяя линия) наблюдается 6 зон со следующими значениями R_f (таблица 5.2.2).

Таблица 5.2.2 - Данные денситограммы сбора «Кардиофит-ИБС» без обработки

Пик	R_f	S	%S	H	%H	Описание
1	0,09	218631	14	5833	15,7	
2	0,25	425133	27,3	6665	17,9	
3	0,5	212649	13,7	5243	14,1	Рутин
4	0,63	402339	25,8	6848	18,4	
5	0,72	218631	14	5833	15,7	Гиперозид
6	0,87	191382	12,3	7217	19,4	
7	0,93	107342	6,9	5448	14,6	Кофейная кислота

После обработки хроматограммы 5% спиртовым раствором хлорида алюминия, на хроматограмме проявились новые зон адсорбции со значениями R_f , представленными в таблице 5.2.3.

Таблица 5.2.3 - Данные денситограммы сбора «Кардиофит-ИБС» после обработки 5% спиртовым раствором хлорида алюминия

Пик	R_f	S	%S	H	%H	Описание
8	0,80	115494	5,5	3969	9,3	
9	0,98	173094	8,3	8586	20	Кверцетин

Сравнение со стандартными образцами позволило зону с R_f около 0,5 идентифицировать как рутин, с R_f около 0,72 - гиперозид, зона с R_f около 0,93 - кофейная кислота, зона с R_f около 0,98 - кверцетин.

Вещества, соответствующие стандартным образцам, были элюированы с хроматографических пластин. У выделенных веществ измеряли УФ-спектры. Спектральные характеристики данных соединений совпали с характеристиками свидетелей.

С использованием видеоденситометра в анализируемой пробе было определено соотношение индивидуальных веществ (таблица 5.2.2 и 5.2.3). Соотношение определяли по площади и высоте пиков. Так, согласно полученным данным, доминирующими веществами в пробе являются кверцетин и вещества с R_f 0,25 и 0,64.

Проведена количественная оценка обнаруженных веществ методом ВЭТСХ - рутина, кверцетина и кофейной кислоты. Согласно полученным данным, содержание рутина методом хроматоденситометрии в одной серии анализируемой пробы сбора «Кардиофит-ИБС» составило в среднем $0,55 \pm 0,05\%$, кверцетина - $0,63 \pm 0,05\%$, кофейной кислоты - $0,46 \pm 0,03\%$, гиперозида - $0,4 \pm 0,03\%$.

При хроматоденситометрическом исследовании извлечения сбора «Ангиофит-НМК», полученного с использованием 95% этилового спирта (1:10), на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-В-УФ» наилучшее разделение произошло с использованием системы растворителей этилацетат-муравьиная кислота-уксусная кисло-

та-вода (100:11:11:13). При анализе полученной хроматограммы при 365 нм была получена денситограмма, представленная на рисунке 5.2.5.

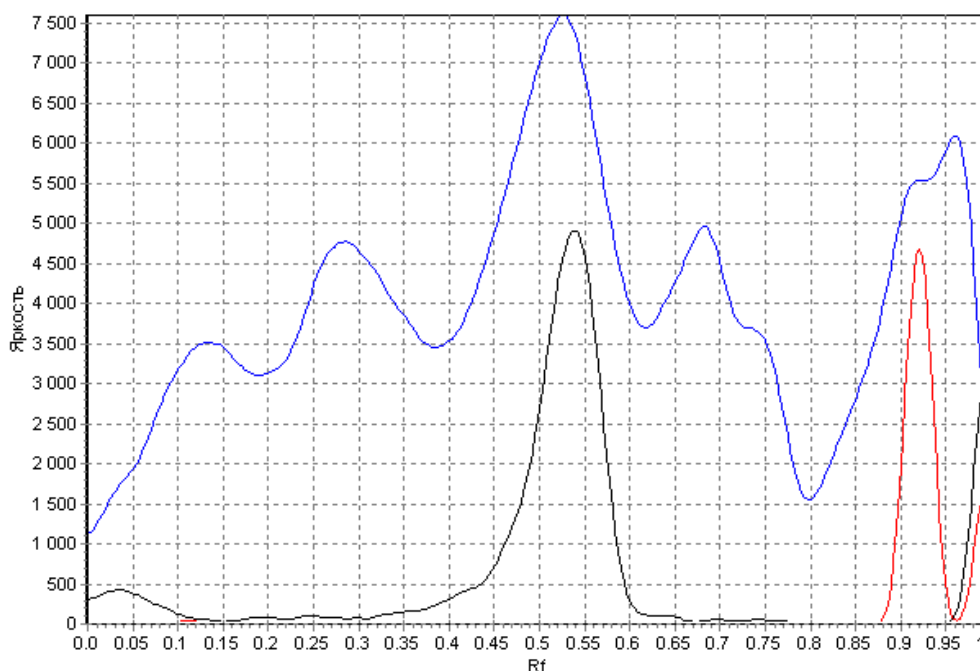


Рисунок 5.2.5. Денситограмма сбора «Ангиофит-НМК» при 365 нм в системе этилацетат-муравьиная кислота-уксусная кислота - вода (100:11:11:13) (синяя линия - сбор, черная линия - хлорогеновая кислота, красная линия - кофейная кислота)

На денситограмме (синяя линия) без обработки наблюдается 6 зон со следующими значениями R_f (таблица 5.2.4.)

Таблица 5.2.4 - Данные денситограммы сбора «Ангиофит-НМК» при 365 нм

Пик	R_f	S	%S	H	%H	Описание
1	0,13	161797	12,6	3504	10,8	
2	0,29	246588	19,2	4767	14,7	
3	0,53	401226	31,3	7592	23,4	Хлорогеновая кислота
4	0,68	211477	16,5	4953	15,3	
5	0,92	144413	11,3	5536	17,1	Кофейная кислота
6	0,96	115906	9	6085	18,8	

При хроматоденситометрическом исследовании 95% спиртового извлечения сбора «Ангиофит-НМК» (1:10) на пластинке «Сорбфил ПТСХ-АФ-В-УФ» при 254 нм нами была получена денситограмма, представленная на рисунке 5.2.6.

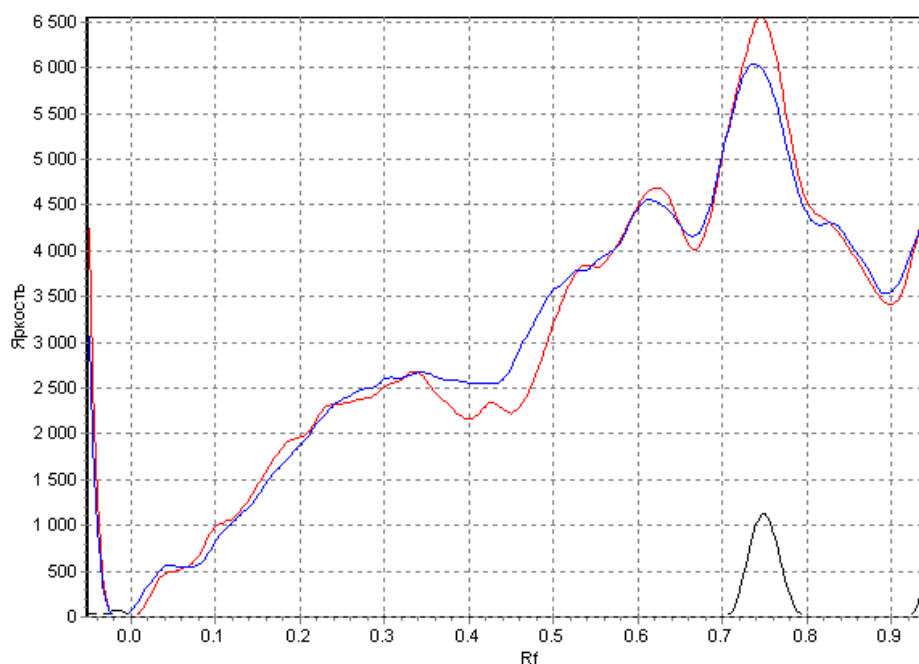


Рисунок 5.2.6. Денситограмма сбора «Ангиофит-НМК» при 254 нм в системе этилацетат-муравьиная кислота-уксусная кислота - вода (100:11:11:13) (синяя и красная линии - сбор, черная линия - гиперозид)

На денситограмме (синяя линия) без обработки видны 6 зон со следующими значениями R_f (таблица 5.2.5).

Таблица 5.2.5 - Данные денситограммы сбора «Ангиофит-НМК» при 254 нм

Пик	R_f	S	%S	H	%H	Описание
1	0,31	143276	15,6	2616	10,3	
2	0,34	80921	8,8	2669	10,5	
3	0,42	15291	1,7	2550	10,1	
4	0,61	304048	33,1	4552	17,9	
5	0,74	255776	27,8	6035	23,8	Гиперозид
6	0,83	111776	12,2	4304	17	

При сравнении со стандартными образцами зона с R_f около 0,53 идентифицирована как хлорогеновая кислота, с R_f около 0,92 - кофейная кислота, с R_f около 0,74 - гиперозид.

Вещества, соответствующие стандартным образцам, были элюированы с хроматографических пластин. У выделенных веществ измеряли УФ-спектры. Спектральные характеристики данных соединений совпали с характеристиками свидетелей.

С использованием видеоденситометра в анализируемой пробе было определено соотношение индивидуальных веществ (таблица 5.2.4 и 5.2.5). Соотношение определяли по площади и высоте пиков. Так, согласно полученным данным, доминирующими веществами в пробе являются хлорогеновая кислота, гиперозид и вещество с R_f 0,61.

Проведена количественная оценка обнаруженных веществ методом ВЭТСХ по высоте пиков - кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты и гиперозида. Согласно полученным данным, содержание кофейной кислоты методом хромато-денситометрии в одной серии анализируемой пробы сбора «Ангиофит-НМК» составило в среднем $0,06 \pm 0,006\%$, хлорогеновой кислоты - $0,73 \pm 0,06\%$, гиперозида - $0,94 \pm 0,08\%$.

ВЭЖХ исследования

Анализ суммы флавоноидов в сборе «Кардиофит-ИБС» проводили методом ВЭЖХ в хроматографической системе WatersBreeze (Waters, США) со спектрофотометрическим детектором (глава 2, п.2.2.3.1.).

При проведении анализа извлечения из сбора «Кардиофит-ИБС», полученного с использованием 70% этилового спирта, было обнаружено 15 соединений (рисунок 5.2.7), из которых идентифицированы при сопоставлении времени удерживания пиков веществ на хроматограммах анализируемых образцов со временем удерживания пиков стандартных образцов и УФ-спектрами следующие флавоноиды: флавонолгликозид рутин, а также агликоны: физетин и нарингин.

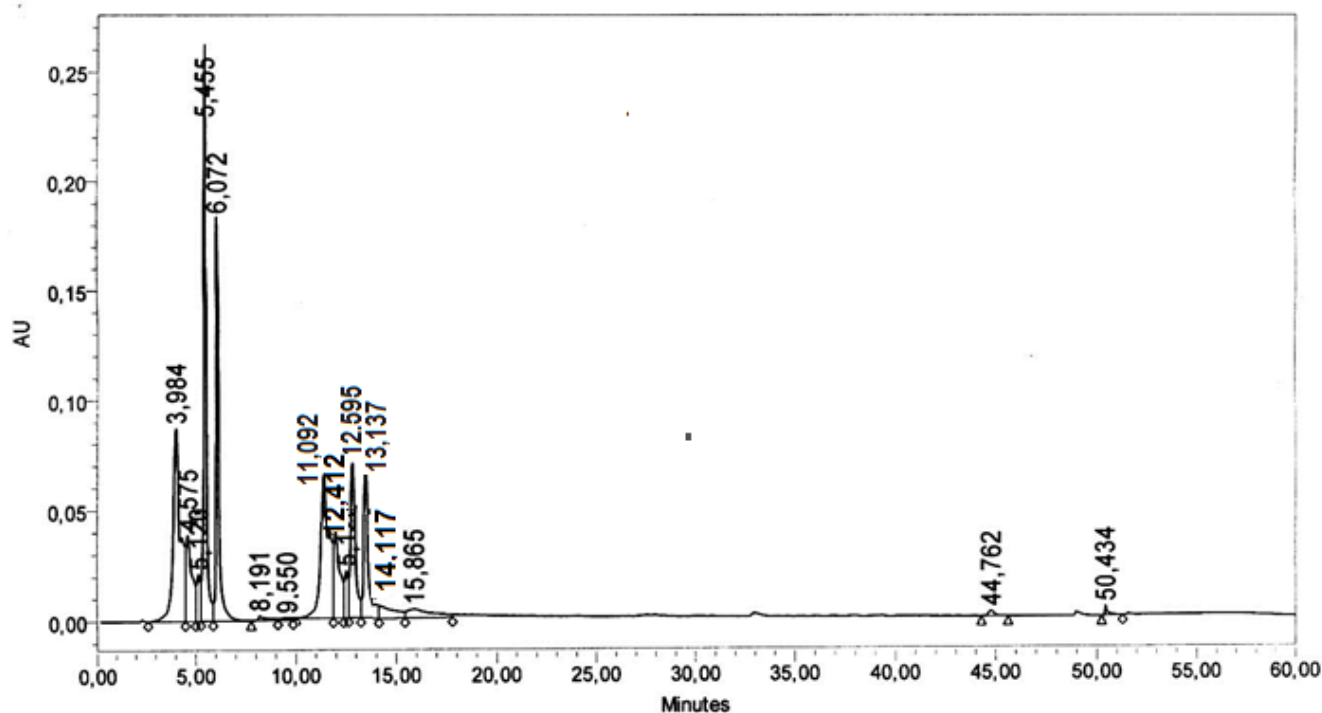


Рисунок 5.2.7. Хроматограмма 70% спиртового извлечения из сбора «Кардиофит-ИБС» (12,412 - физетин, 12,595 - рутин, 13,137 - нарингин).

При сравнении содержания идентифицированных флавоноидов пробе, оказалось, что доминирующим является рутин (1,86%), затем - нарингин (1,23%) и физетин (0,34%).

ГХ/МС исследования

Исследование извлечений, полученных из сборов с использованием 95% этилового спирта, проводили методом ГХ/МС. Приготовленные пробы анализировали с использованием газового хроматографа «Agilent» (США) модели 6890 N с масс-селективным детектором модели 5973 (глава 2, п.2.2.3.1.)

При исследовании извлечения сбора «Кардиофит-ИБС» методом ГХ/МС было обнаружено 80 соединений (рисунок 5.2.8), из которых идентифицированы по сравнению с библиотечными масс-спектрами 13 веществ, из них 4 - фенольной природы: кумарин, гидрокумарин, 5-метоксипсорален и аммоидин (таблица 5.2.6).

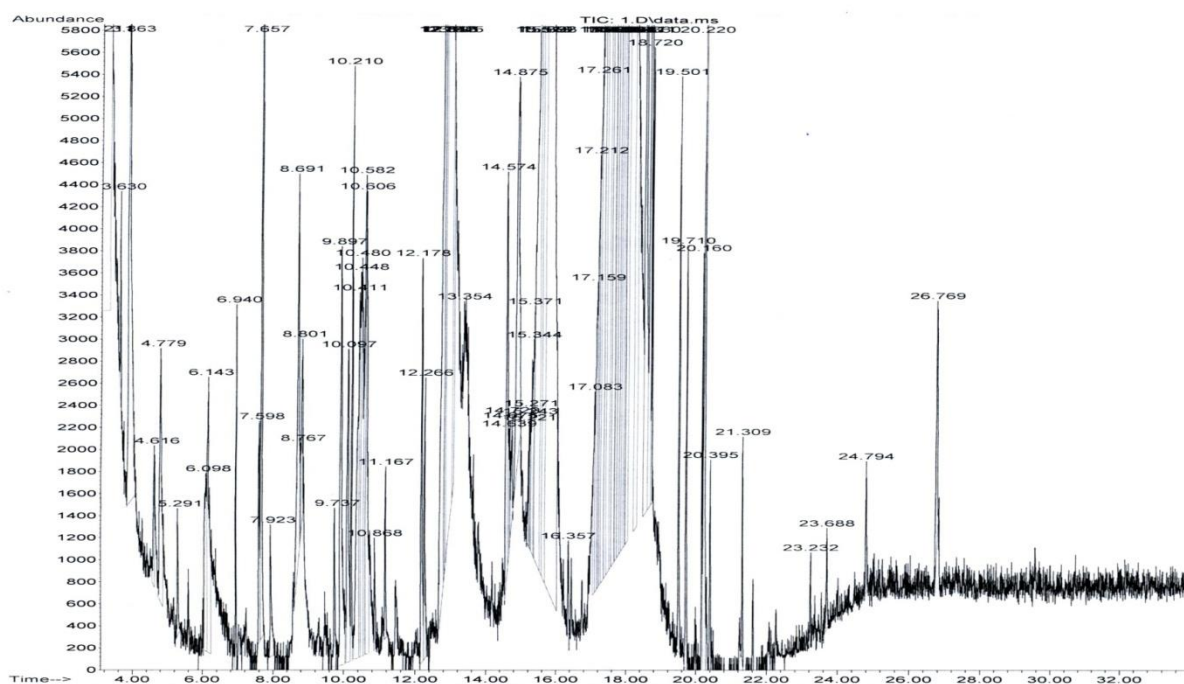


Рисунок 5.2.8. ГХ/МС-хроматограмма 95% спиртового извлечения из сбора «Кардиофит-ИБС»

Таблица 5.2.6 - Результаты ГХ/МС анализа сбора «Кардиофит-ИБС»

Соединение	Время удерживания, мин	Содержание в пробе, %
М-бис(м-феноксифенокси)бензен	3,208	7,11
Лимонен	6,942	0,22
Карвон	10,209	0,41
Гидрокумарин	12,179	0,45
Кумарин	12,894	7,37
Сорбитол	17,977	4,48
1,3,4,5-Тетрагидро-7,8-диметокси-1-метилпирроло[4,3,3-де] винилин	18,237	3,41
Пальмитиновая кислота	18,512	2,67
Изоалантолактон	18,660	5,32
5-Метоксипсорален	19,502	0,46

Аммоидин	19,709	0,38
Линолевая кислота	20,159	0,29
1-Гидрокси-2-ацетил-3,4-диметокси-нафталин	21,308	0,15

Анализируя данные таблицы, видно, что содержание кумарина в пробе достаточно высокое (7,37%). Из других групп биологически активных веществ наблюдается высокая концентрация изоалантолактона (5,32%). Значительное содержание кумарина может обуславливать, согласно литературным данным, терапевтический эффект, связанный с антикоагулянтной и антиагрегантной активностью, а изоалантолактона – с антиоксидантными и нейропротекторными свойствами [112, 142, 171, 174, 216].

При исследовании извлечения сбора «Ангиофит-НМК» методом ГХ/МС было обнаружено 33 соединения, из которых идентифицированы по сравнению с библиотечными масс-спектрами 10 веществ, из них 3 - фенольной природы: 7-метокси-2Н-1-бензопиран-2-он, 2Н-1-бензопиран-2-он, 3,4-Дигидро-2Н-1-бензопиран-2-он (таблица 5.2.7).

Таблица 5.2.7 - Результаты ГХ/МС анализа сбора «Ангиофит-НМК»

Соединение	Время удерживания, мин	Содержание в пробе, %
Маннитол	5,726	2,34
2Н-1-Бензопиран-2-он	7,635	0,56
3,4-Дигидро-2Н-1-бензопиран-2-он	7,181	1,61
7-Метокси-2Н-1-бензопиран-2-он	9,509	1,12
Сорбитол	10,544	2,62
Октадекатриеновая кислота	11,441	4,62
Фитол	11,310	11,23
Эйкозан	12,927	1,78

Гамма-ситостерол	18,928	0,12
22,23-Дигидростигмастерол	18,984	0,89

Анализируя данные таблицы, видно, что содержание производных 2Н-1-бензопиран-2-она в пробе достаточно высокое (3,29%). Из других групп биологически активных веществ можно отметить высокое содержание фитола и октадекантриеновой кислоты (11,23% и 4,62%). Значительное содержание производных кумарина может обуславливать, согласно литературным данным, антикоагулянтное, антигипоксическое, ноотропное и антиаритмическое действие [85], а октадекантриеновой кислоты - гипохолестеринемическое и антиатерогенное действие, а также влияние на когнитивные функции у пожилых людей [335].

Выводы по главе 5

1. В ходе морфолого-анатомических исследований установлены морфологические и анатомо-диагностические признаки сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК». Выделены анатомические диагностически-значимые признаки сборов для разработки показателя качества по проявляемости ДЗП.
2. С использованием качественных реакций установлено в сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» присутствие флавоноидов, кумаринов, конденсированных дубильных соединений, сапонинов, аскорбиновой кислоты, полисахаридов, эфирных масел. В сборе «Ангиофит-НМК» обнаружены алкалоиды.
3. В сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» методом ТСХ и ВЭТСХ идентифицированы рутин, гиперозид, кверцетин, кофейная и хлорогеновая кислота. В сборе «Кардиофит-ИБС» методом ВЭЖХ обнаружено 15 соединений, из которых идентифицированы рутин, физетин, нарингин. Методом ГХ/МС идентифицированы 13 веществ, из них 4 - фенольной природы: кумарин, гидрокумарин, 5-метоксипсорален и аммоидин. В сборе «Ангиофит-НМК» методом ГХ/МС идентифицированы 10 веществ, из них 3 - фенольной природы: 7-метокси-2Н-1-бензопиран-2-он, 2Н-1-бензопиран-2-он, 3,4-Дигидро-2Н-1-бензопиран-2-он.

ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СТАНДАРТИЗАЦИИ И НОРМАТИВНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ НА ЛИСТЬЯ БОЯРЫШНИКА КРОВАВО-КРАСНОГО, СБОРЫ «КАРДИОФИТ-ИБС» И «АНГИОФИТ-НМК»

6.1. Количественный анализ биологически активных веществ в листьях боярышника кроваво-красного, сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»

Количественное определение БАВ в объектах исследования определяли по методикам, описанным в главе 2, п. 2.2.3.2. Содержание каждой группы веществ определяли в пяти сериях опытов (в серии не менее 5 образцов) в течение 2005 - 2013 гг. Статистическую обработку результатов проводили по статье ГФ XI издания «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [56]. В таблице 6.1.1 представлены средние результаты проведенных исследований.

Таблица 6.1.1 - Содержание БАВ в объектах исследованиях

№ п/ п	Группы БАВ	Метод количественного определения	Содержание, %		
			Кардиофит- ИБС	Ангиофит- НМК	Листья боярышника к-к
1.	Сапонины	Фотоэлектроколори- метрический	0,68±0,03	0,95±0,04	0,08±0,003
2.	Флавоноиды	Спектрофотометриче- ский	1,31±0,02	1,45±0,06	2,34±0,04
3.	Полисахариды	Гравиметрический	9,93±0,61	8,53±0,45	10,92±0,25
4.	Кумарины	Спектрофотометриче- ский	0,28±0,09	0,32±0,01	4,46±0,08
5.	Дубильные Вещества	Окислительно- восстановительное титрование	2,95±0,17	6,80±0,28	4,87±0,35

6.	Аскорбиновая кислота	Окислительно-восстановительное титрование	$0,029 \pm 0,0002$	$0,00435 \pm 0,0002$	$0,54 \pm 0,03$
7.	Эфирные масла	Гидродистилляция (метод 1 ГФ XI)	$0,88 \pm 0,02$	-	$0,43 \pm 0,02$
8.	Фенолкарбоновые кислоты	Спектрофотометрический	$2,03 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,012$	$1,87 \pm 0,05$
9.	Каротиноиды	Спектрофотометрический	$0,013 \pm 0,005$	$0,017 \pm 0,007$	$0,064 \pm 0,003$
10	Алкалоиды	Кислотно-основное Титрование	-	$0,039 \pm 0,001$	-
11	Органические кислоты	Кислотно-основное Титрование	$1,87 \pm 0,04$	$2,02 \pm 0,05$	$2,79 \pm 0,25$

Анализируя полученные данные (таблица 6.1.1), оказалось, что преобладающими группами БАВ в исследуемых объектах являются фенольные соединения (флавоноиды, дубильные вещества, ФФК и кумарины), органические кислоты и полисахариды.

Для выбора оптимального времени заготовки листьев боярышника кроваво-красного в качестве лекарственного растительного сырья изучалась динамика накопления основных групп биологически активных веществ в разные периоды вегетации. Исследования проводились в период 2009-2012 гг.

Динамику накопления флавоноидов (методики 1,2,3 и 4 глава 2, п. 2.2.3.2.) исследовали с использованием различных спектрофотометрических методик в пересчете на флавоноиды: кверцетин, рутин, гиперозид и цианидина хлорид (рисунок 6.1.1).

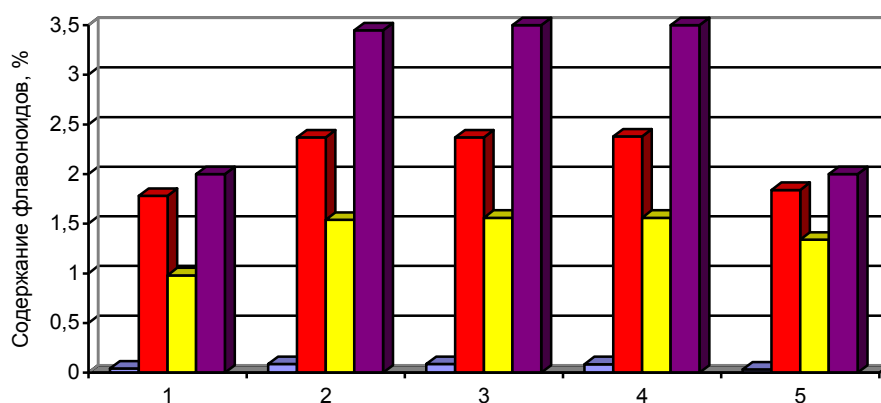


Рисунок 6.1.1. Динамика накопления флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного (синий - в пересчете на кверцетин, красный - в пересчете на рутин, желтый - в пересчете на гиперозид, фиолетовый - цианидина хлорид: 1 - фаза формирования листьев, 2 - начало цветения, 3 - массовое цветение, 4 - окончание цветения, 5 - фаза плодоношения).

Оказалось, что флавоноиды максимально накапливаются в листьях боярышника кроваво-красного в начале цветения и содержание их сохраняется до окончания цветения.

Также исследовали динамику накопления в листьях боярышника кроваво-красного тритерпеновых сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту (глава 2, п. 2.2.3.2).

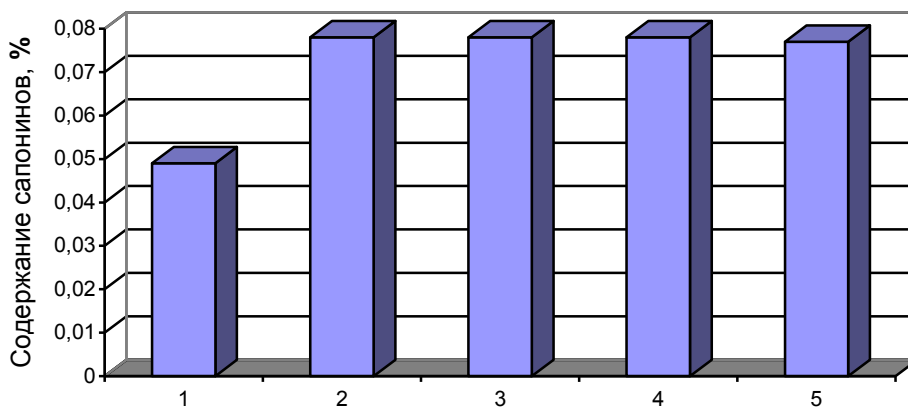


Рисунок 6.1.2. Динамика накопления сапонинов в листьях боярышника кроваво-красного (1-фаза формирования листьев, 2 – фаза начала цветения, 3 – фаза массового цветения, 4 – фаза окончания цветения, 5 – фаза плодоношения).

Полученные данные, согласно рисунку 6.1.2. свидетельствуют о том, что накопление сапонинов в листьях боярышника кроваво-красного достигает максимума в период цветения растения, а затем изменяется незначительно.

Таким образом, при проведении сравнительного анализа накопления флавоноидов и сапонинов в листьях боярышника кроваво-красного в разные периоды вегетации можно сделать вывод, что заготовку листьев необходимо производить в период цветения растения. На основании данных исследований разработана «Инструкция по сбору и сушке листьев боярышника кроваво-красного» (Приложение 7).

Изучение аминокислотного и микроэлементного состава

Аминокислоты содержатся во всех живых организмах. Они образуют ядро каждой клетки. Около 80 % аминокислот синтезируется в печени, а остальные мы получаем с пищей. С точки зрения патологии сердечно-сосудистой системы и системы кроветворения наибольший интерес представляют такие аминокислоты, как лизин, аргинин, метионин. Известно, что метионин способен стимулировать ослабленную сердечную деятельность через активацию обменных процессов. Аналогичное действие и положительный инотропный эффект обнаружен и у лейцина. Лизин понижает уровень триглицеридов в сыворотке крови, что предупреждает образование липопротеинов, вызывающих закупорку артерий. Аминокислоты влияют непосредственно на сократительную функцию миокарда или на триггерный механизм, обладают липотропным действием, увеличивают усвояемость микроэлементов, понижая их токсичность. Снижение уровня в организме серотонина и L-аргинина в сыворотке крови также создает условия для вазоконстрикции сосудистого русла, что ведет к повреждению сосудистой стенки и активации активности адгезии тромбоцитов [262].

Аминокислоты в сборах и листьях боярышника кроваво-красного обнаруживали рентгено-флуоресцентным методом (глава 2, п.2.2.3.1). В объектах исследования было установлено и количественно определено присутствие четырна-

дцати аминокислот (лизин, пролин, метионин, глицин, цистеин, валин, гистидин, изолейцин, аргинин, лейцин, треонин, тирозин, серин, фенилаланин), десять из которых являются незаменимыми, три - полузаменимыми и одна - заменимой [242]. Результаты исследования представлены в таблице 6.1.2.

Таблица 6.1.2 - Содержание аминокислот в объектах исследования (n=5), %

Аминокислоты	Листья боярышника кроваво-красного	Кардиофит-ИБС	Ангиофит-НМК
Лизин	0,45±0,03	0,38±0,03	0,20±0,01
Пролин	1,91±0,01	2,27±0,01	2,21±0,12
Метионин	0,31±0,02	0,27±0,02	0,11±0,01
Глицин	1,03±0,05	1,09±0,05	0,99±0,04
Цистеин	0,21±0,01	0,43±0,01	0,61±0,03
Валин	1,63±0,08	1,49±0,08	1,20±0,05
Гистидин	0,07±0,01	0,03±0,01	0,19±0,01
Изолейцин	0,13±0,01	0,04±0,01	0,21±0,01
Аргинин	0,75±0,04	0,84±0,04	0,61±0,04
Лейцин	0,24±0,01	0,04±0,01	0,40±0,02
Треонин	0,44±0,02	0,45±0,02	0,26±0,01
Тирозин	0,35±0,02	0,36±0,02	0,24±0,01
Серин	0,50±0,03	0,56±0,03	0,40±0,02
Фенилаланин	0,61±0,03	0,65±0,03	0,44±0,02

Из результатов, представленных в таблице видно, что сборы и листья боярышника кроваво-красного могут являться дополнительными источниками таких незаменимых аминокислот, как лизин, аргинин, метионин, необходимых для нормальной работы ССС. В листьях боярышника кроваво-красного и в сборе «Ангиофит» наблюдается достаточно высокое содержание лейцина и изолейцина, на основании чего можно предположить у них положительное инотропное действие на сердце.

Макро- и микроэлементы играют важную роль в жизнедеятельности человеческого организма, и их дефицит приводит к развитию различных патологических процессов. Известно, что при сердечно-сосудистых заболеваниях в крови че-

ловека наблюдается дефицит меди, цинка, марганца. Лечебные дозы микроэлементов, введенные в организм больного, положительно воздействуют на течение болезни, что позволяет считать коррекцию микроэлементного обмена важной составной частью комплексной терапии заболеваний сердечно-сосудистых заболеваний [71, 201, 202].

Растения являются источниками различных макро- и микроэлементов, поэтому было исследовано содержание некоторых элементов в сборах и листьях боярышника кроваво-красного. Содержание обнаруженных макро- и микроэлементов в трёх исследуемых образцах сырья определяли рентгено-флуоресцентным методом (глава 2, п. 2.2.3.1.). Средние данные представлены в таблице 6.1.3.

Таблица 6.1.3 - Содержание макро-и микроэлементов в исследуемых образцах (n=5)

Объект исследования	Макроэлементы				Микроэлементы				
	P, %	K, %	Ca, %	Na, %	Zn, мг/кг	Fe, мг/кг	Cu, мг/кг	Mn, мкг/кг	J, мг/кг
Сбор «Кардиофит-ИБС»	0,24± 0,01	0,19± 0,01	1,37± 0,11	0,30± 0,02	59,47 ±2,13	580,02 ±18,94	7,28± 0,45	505,14 ±26,82	0,20±0,01
Сбор «Ангиофит-НМК»	0,19± 0,01	0,56± 0,03	1,18± 0,05	0,25± 0,01	63,62 ±3,13	659,94 ±34,15	5,56± 0,25	455,59 ±23,45	0,17±0,01
Листья боярышника кроваво-красного	0,19± 0,01	0,14± 0,01	2,00± 0,11	0,32± 0,02	37,06 ±2,13	310,38 ±18,94	9,74± 0,45	468,95 ±26,82	0,21±0,01

Из результатов, представленных в таблице видно, что разработанные сборы и листья боярышника кроваво-красного могут служить дополнительными источниками таких микроэлементов, как цинк, медь и марганец, необходимых для нормального функционирования сердечно-сосудистой системы.

6.2. Разработка методик количественного определения флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного, сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»

Для разработки метода стандартизации листьев боярышника кроваво-красного исследовалось содержание в них флавоноидов, процианидинов, тритерпеновых сапонинов, так как фармакологические свойства боярышника связывают именно с данными группами БАВ [64, 87]. Исследования проводились в сравнении с фармакопейными видами сырья - плодами и цветками боярышника.

В действующей нормативной документации на сырье и препараты боярышника стандартизация проводится по содержанию флавоноидов в пересчете на гиперозид [55]. Методика является достаточно трудоемкой и не отражает всю сумму флавоноидов, а только содержание гиперозида. В странах, где листья и цветки боярышника, листья с цветками боярышника и листья боярышника являются официальными, стандартизацию согласно нормативной документации проводят с использованием спектрофотометрических методик в пересчете на различные флавоноиды: на витексин, на гиперозид, на рутин, на цианидина хлорид [53, 55, 286, 302, 372]. Поэтому для предварительных исследований использованы различные авторские спектрофотометрические методики количественного содержания флавоноидов, разработанные для плодов боярышника и других видов ЛРС:

1. Спектрофотометрическая методика в пересчете на кверцетин после проведения предварительного гидролиза, так как кверцетин является агликоном большинства флавоноидов, в том числе и гиперозида (*методика 2*, глава 2, п.2.2.3.2). Данная методика приводится в литературе для цветков и плодов боярышника. Поэтому мы сочли возможным использовать ее и для листьев, проведя также сравнительное определение флавоноидов и в официальных видах сырья боярышника (плодах и цветках).

Таблица 6.2.1 - Количественное содержание флавоноидов в пересчете на кверцетин в различных видах сырья боярышника кроваво-красного

Объекты исследования	Содержание, %
Листья боярышника (цветение, Уфимский р-н, 2010)	0,081±0,004
Листья боярышника (цветение, Дуванский р-н, 2011)	0,086±0,004
Листья боярышника (цветение, Чишминский р-н, 2012)	0,074±0,003
Цветки боярышника	0,087±0,005
Плоды боярышника	0,063±0,003

Согласно используемой методике, содержание флавоноидов в пересчете на кверцетин в листьях боярышника оказалось незначительным и составило в среднем от 0,074±0,003% до 0,086±0,004% (таблица 6.2.1). В цветках содержание кверцетина оказалось примерно столько же, в плодах – несколько ниже.

2. Спектрофотометрическая методика определения флавоноидов в пересчете на гиперозид, основанная на реакции комплексообразования флавоноидов с раствором алюминия хлорида и определении оптической плотности окрашенного комплекса (методика 3, глава 2, п.2.2.3.2.).

Таблица 6.2.2 - Количественное содержание флавоноидов в пересчете на гиперозид в различных видах сырья боярышника кроваво-красного

Объекты исследования	Содержание, %
Листья боярышника (цветение, Уфимский р-н, 2010)	1,87±0,08
Листья боярышника (цветение, Дуванский р-н, 2011)	2,37±0,16
Листья боярышника (цветение, Чишминский р-н, 2012)	2,07±0,12
Цветки боярышника	2,55±0,07
Плоды боярышника	0,09±0,004

Согласно используемой методике, содержание флавоноидов в пересчете на гиперозид в листьях боярышника составило в среднем от 1,87±0,08% до 2,37±0,16% (таблица 6.2.2). Исходя из полученных данных, накопление флавоноидов происходит больше в листьях и цветках боярышника.

3. Спектрофотометрическая методика определения флавоноидов в пересчете на рутин, основанная на реакции комплексообразования флавоноидов с раство-

ром алюминия хлорида и определении оптической плотности окрашенного комплекса (*методика 1*, глава 2, п.2.2.3.2.).

Таблица 6.2.3 - Количественное содержание флавоноидов в пересчете на рутин в различных видах сырья боярышника кроваво-красного

Объекты исследования	Содержание, %
Листья боярышника (цветение, Уфимский р-н, 2010)	1,78±0,07
Листья боярышника (цветение, Дуванский р-н, 2011)	2,38±0,15
Листья боярышника (цветение, Чишминский р-н, 2012)	2,11±0,08
Цветки боярышника	1,32±0,056
Плоды боярышника	0,07±0,003

Согласно используемой методике, содержание флавоноидов в пересчете на рутин в листьях боярышника составило в среднем от 1,78±0,07% до 2,38±0,15% (таблица 6.2.3). Следовательно, накопление флавоноидов происходит больше в листьях и цветках боярышника.

Вместе с тем, в мировой литературе содержатся многочисленные данные, свидетельствующие о том, что основными действующими веществами боярышника, обуславливающими кардиотонический и гипотензивный эффект, является не гиперозид или тритерпеновые сапонины, как предполагали ранее, а процианидины [97, 253]. В зарубежной литературе плоды боярышника рассматривают как источник процианидинов и используют для стандартизации количественное определение данной группы флавоноидов [253].

Для количественного определения процианидинов в сырье боярышника нами использован модифицированный метод Porter, в основе которого лежит кислотное расщепление процианидинов до антоцианидинов в присутствии катализаторов (ионов Fe^{3+}) (*методика 4*, глава 2, п.2.2.3.2.).

Таблица 6.2.4 - Количественное содержание процианидинов в пересчете на цианидин в различных видах сырья боярышника кроваво-красного

Объекты исследования	Содержание, %
Листья боярышника (цветение, Уфимский р-н, 2010)	3,58±0,15
Листья боярышника (цветение, Дуванский р-н, 2011)	3,79±0,18
Листья боярышника (цветение, Чишминский р-н, 2012)	3,61±0,16
Цветки боярышника	2,54±0,11
Плоды боярышника	1,67±0,09

Так, содержание процианидинов в листьях боярышника кроваво-красного составило в среднем от 3,58±0,15% до 3,79±0,18 % (таблица 6.2.4), что значительно превосходит по содержанию цветки и плоды.

Для количественного определения сапонинов использовался метод, основанный на реакции с концентрированной серной кислотой, с последующим измерением оптической плотности при длине волны 490 нм (глава 2, п.2.2.3.2.). Содержание сапонинов рассчитывали в пересчете на олеаноловую кислоту.

Таблица 6.2.5 - Количественное содержание сапонинов в различных видах сырья боярышника кроваво-красного

Объекты исследования	Содержание, %
Листья боярышника (цветение, Уфимский р-н, 2010)	0,078±0,004
Листья боярышника (цветение, Дуванский р-н, 2011)	0,082±0,005
Листья боярышника (цветение, Чишминский р-н, 2012)	0,088±0,005
Цветки боярышника	0,105±0,006
Плоды боярышника	0,120±0,007

Согласно полученным данным, содержание тритерпеновых сапонинов оказалось незначительным и составило в среднем от 0,078±0,004% до 0,088±0,005% (таблица 6.2.5). Содержание тритерпеновых сапонинов в цветках и плодах боярышника было выше, чем в листьях.

Анализируя полученные данные (таблицы 6.2.1 - 6.2.5) оказалось, листья боярышника кроваво-красного накапливают флавоноиды (кверцетин, рутин, процианидины) больше, чем цветки и плоды, уступая им лишь по содержанию тритерпеновых сапонинов. Кроме того, содержание флавоноидов в листьях значи-

тельно превышает содержание в них тритерпеновых сапонинов. Поэтому в качестве приоритетного маркера для стандартизации листьев боярышника кроваво-красного были выбраны флавоноиды.

При выборе приоритетного маркера для разработки метода стандартизации сборов основывались на следующем. Во-первых, флавоноиды были обнаружены и выделены при хроматографическом исследовании сборов. Во-вторых, из 20 видов ЛРС, входящих в состав сборов плоды боярышника, трава сушеницы топяной, листья земляники лесной (проект ФС) и соплодия хмеля (проект ФС) стандартизируются по содержанию флавоноидов; листья мяты перечной, плоды тмина, цветки ромашки - по содержанию эфирных масел; трава пустырника – по содержанию иридоидов, столбики с рыльцами кукурузы - по содержанию экстрактивных веществ; трава золототысячника - по содержанию ксантонов; трава донника - по содержанию кумаринов; трава мелиссы лекарственной - по содержанию фенилпропаноидов; листья подорожника большого - по содержанию полисахаридов; корни солодки - по содержанию сапонинов (глицирризиновой кислоты); трава барвинка малого - по содержанию алкалоидов [37, 55, 57, 230, 231, 232, 233, 234]. Для остальных 4 видов ЛРС нормативная документация не предлагает показатель по содержанию БАВ для стандартизации. В-третьих, флавоноиды по литературным данным обладают прогнозируемыми антисклеротическими, антиоксидантными, антигипоксическими, гипотензивными, кардиотоническими свойствами [78, 103, 118, 254], а полисахариды, в основном, обладают иммуномодулирующими, противовоспалительными, противоопухолевыми, противовирусными свойствами [110, 377, 382].

Поэтому в качестве приоритетного маркера для стандартизации сборов также выбраны флавоноиды.

При разработке методики количественного определения флавоноидов в объектах исследования измеряли УФ-спектры спиртовых экстрактов сборов и листьев боярышника кроваво-красного (рисунок 6.2.1).

В УФ-спектре спиртового извлечения сбора «Кардиофит-ИБС» наблюдается несколько максимумов поглощения: при длине волны 271-272 нм и 320-321 нм. Минимумы поглощения - при длине волны 264-265 нм и 313-314 нм.

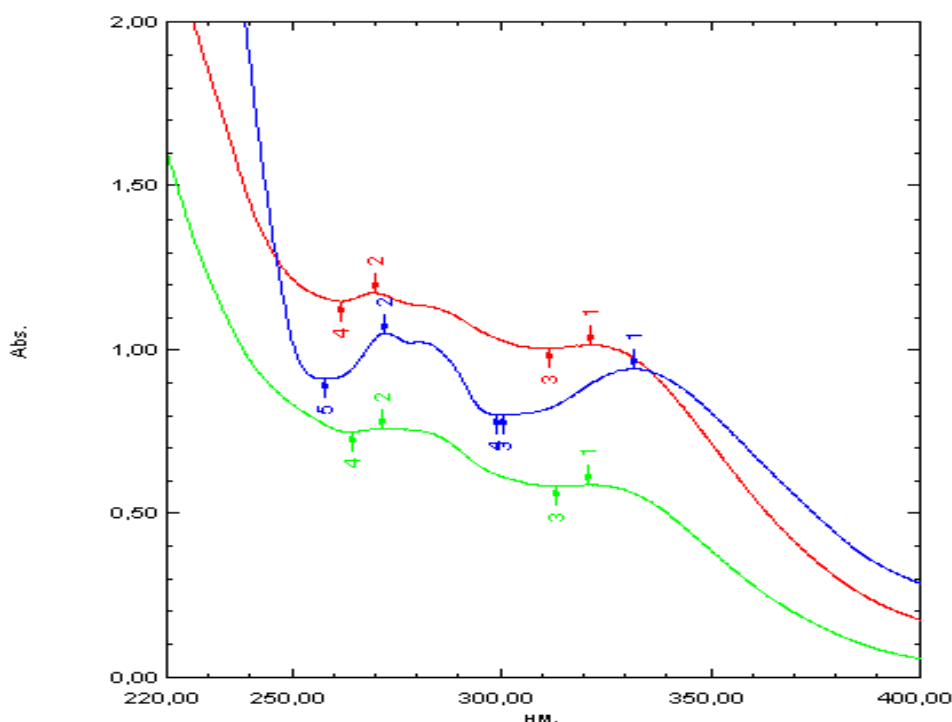


Рисунок 6.2.1. Зеленая линия - УФ-спектр спиртового извлечения сбора «Кардиофит-ИБС», красная линия - УФ-спектр спиртового извлечения сбора «Ангиофит-НМК», синяя линия - УФ-спектр спиртового извлечения листьев боярышника кроваво-красного)

УФ-спектральный анализ спиртового извлечения сбора «Ангиофит-НМК» показал наличие максимумов поглощения при длинах волн 269-270 нм и 321-322 нм, минимумов - 261-262 нм и 311-312 нм, а также площадки при 277-281 нм.

При исследовании УФ-спектра спиртового извлечения листьев боярышника наблюдается две основные полосы поглощения (максимумы поглощения при длинах волн 272 нм и 332 нм, минимумы при 257 нм и 300 нм, и плечо в области 278-284 нм).

Ни одно значение не совпало с максимумами поглощения флавоноидов, обнаруженных в исследуемых объектах. Поэтому в дальнейшем снимали УФ-спектры с комплексообразующей добавкой. При взаимодействии со спиртовым раствором хлорида алюминия наблюдали батохромное смещение полос поглощения. Максимум поглощения комплекса сбора «Кардиофит-ИБС» с хлоридом алю-

миния оказался при длине волны 402 нм, сбора «Ангиофит-НМК» 410 нм, листьев боярышника кроваво-красного - 409 нм (рисунок 6.2.2).

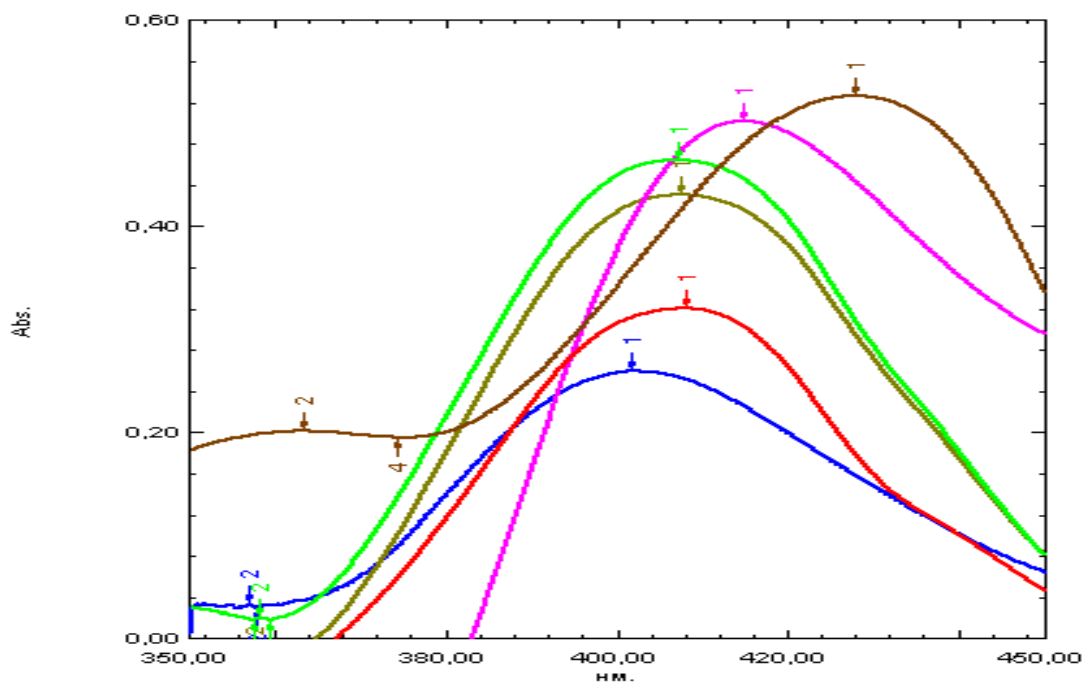


Рисунок 6.2.2. Зеленая линия - УФ-спектр сбора «Кардиофит-ИБС» с AlCl_3 , красная линия - УФ-спектр сбора «Ангиофит-НМК» с AlCl_3 , синяя линия - УФ-спектр листьев боярышника кроваво-красного с AlCl_3 , т.зеленая линия - УФ-спектр рутина с AlCl_3 , сиреневая линия - УФ-спектр гиперозида с AlCl_3 , коричневая линия - УФ-спектр кверцетина с AlCl_3

При сравнении УФ-спектров поглощения спиртовых растворов рутина, кверцетина, гиперозида (флавоноидов, обнаруженных ТСХ в исследуемых объектах) и спиртовых извлечений исследуемых объектов с добавлением раствора алюминия хлорида оказалось, что максимум поглощения комплекса рутина - стандарта с раствором хлорида алюминия совпал с максимумом поглощения продуктов взаимодействия флавоноидов сбора «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного с алюминия хлоридом или был наиболее близок к максимуму сбора «Кардиофит-ИБС».

Таким образом, основой разрабатываемой методики стал метод дифференциальной спектрофотометрии с комплексообразующей добавкой, аналитические параметры которого позволяют использовать его для определения содержания флавоноидов в растительных объектах, содержащих неидентичный набор флавоноидов [19].

В ходе разработки методик экспериментально с последующей статистической обработкой результатов изучено влияние различных условий экстрагирования сырья на выход флавоноидов: концентрация экстрагента, соотношение сырья и экстрагента, время экстракции, кратность экстракции.

Оказалось, что максимально извлекаются флавоноиды из сбора «Кардиофит-ИБС» с использованием 40% этилового спирта, из сбора «Ангиофит-НМК» - 95% этилового спирта, из листьев боярышника кроваво-красного - 80% этилового спирта (рисунок 6.2.3).

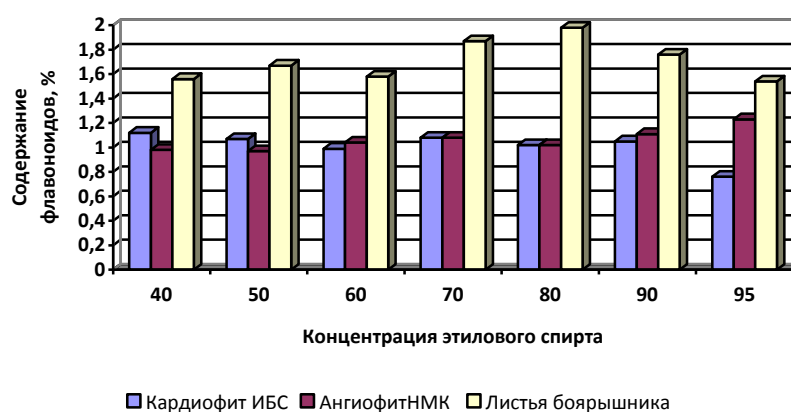


Рисунок 6.2.3. Содержание флавоноидов в зависимости от концентрации этилового спирта

При определении соотношения сырья и экстрагента были использованы различные соотношения 1:10, 1:25, 1:50, 1:100, 1:150 и 1:200. Полученные результаты представлены на рисунке 6.2.4.

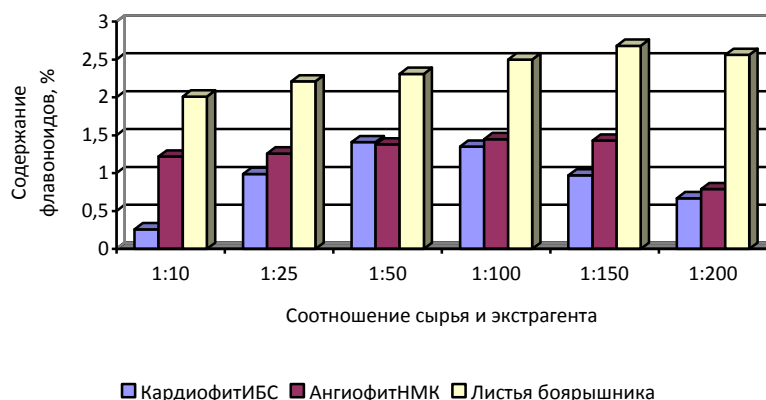


Рисунок 6.2.4. Содержание флавоноидов в зависимости от соотношения сырья и экстрагента

Как видно из результатов, представленных на рисунке, наибольший выход флавоноидов в сборе «Кардиофит-ИБС» наблюдается при соотношении сырья и экстрагента 1:50, в сборе «Ангиофит-НМК» - 1:100, а в листьях боярышника кроваво-красного - 1:150. В связи с отсутствием мерной посуды на 150 мл и небольшой разницей содержания флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного при использовании соотношений 1:150 и 1:200, решено использовать соотношение 1:200.

Экстракция лекарственного растительного сырья представляет собой процесс перехода веществ из раствора с более высокой концентрацией в раствор с меньшей концентрацией по закону диффузии. При этом количество измельченного вещества прямо пропорционально *времени экстракции*. Проводить извлечение до полного выравнивания концентраций нецелесообразно, поэтому необходимо определить время, за которое определяемые вещества максимально извлекаются из раствора и кратность экстракции. Полученные результаты представлены на рисунках 6.2.5. и 6.2.6.

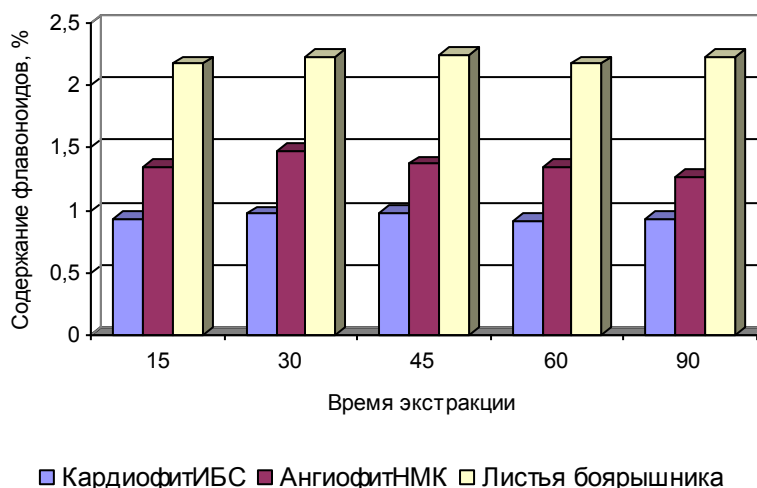


Рисунок 6.2.5. Содержание флавоноидов в зависимости от времени экстракции

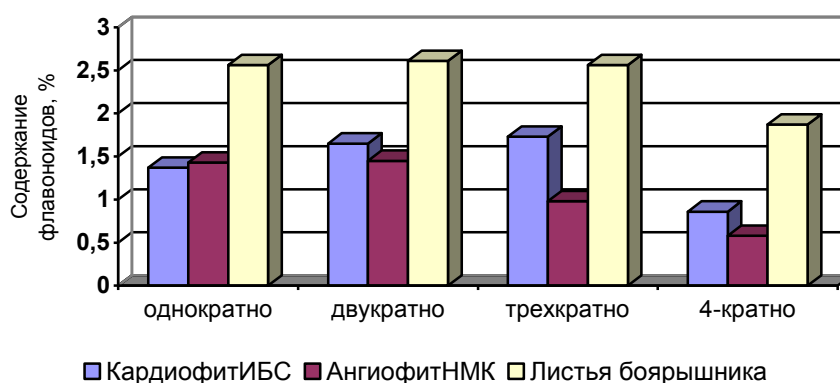


Рисунок 6.2.6. Содержание флавоноидов в зависимости от кратности экстракции

Согласно полученным данным, время экстракции, за которое максимально извлекаются флавоноиды в сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» составило 30 минут, в листьях боярышника кроваво-красного - 45 минут. Кратность экстракции не влияет на выход флавоноидов в сборе «Ангиофит-НМК». В сборе «Кардиофит-ИБС» нами выбрана трехкратная экстракция, а в листьях боярышника кроваво-красного - двукратная.

Установлены также параметры комплексообразования - концентрация комплексообразователя, количество добавляемого спиртового раствора алюминия хлорида, время образования и устойчивость комплекса. Полученные результаты представлены на рисунках 6.2.7, 6.2.8 и 6.2.9.

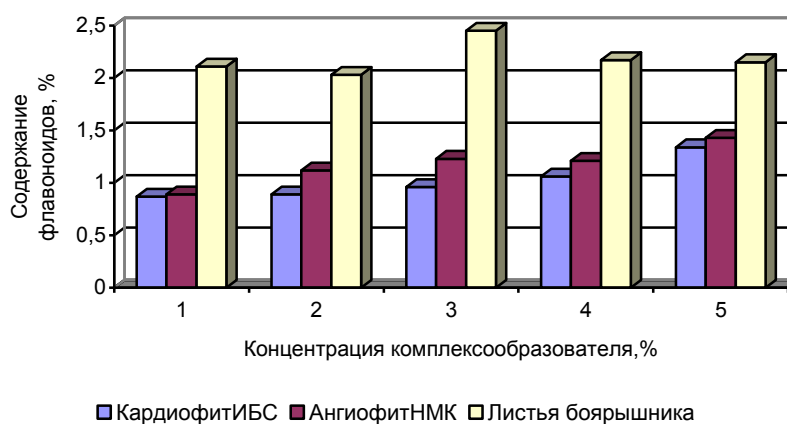


Рисунок 6.2.7. Содержание флавоноидов в зависимости от концентрации комплексообразователя

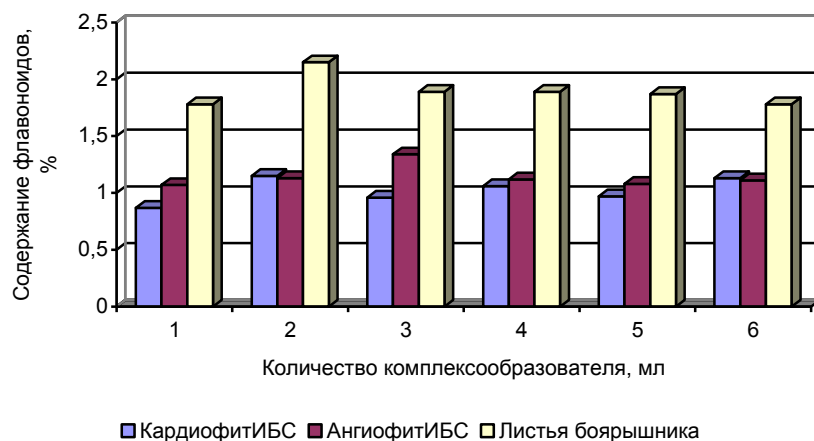


Рисунок 6.2.8. Содержание флавоноидов в зависимости от количества комплексообразователя

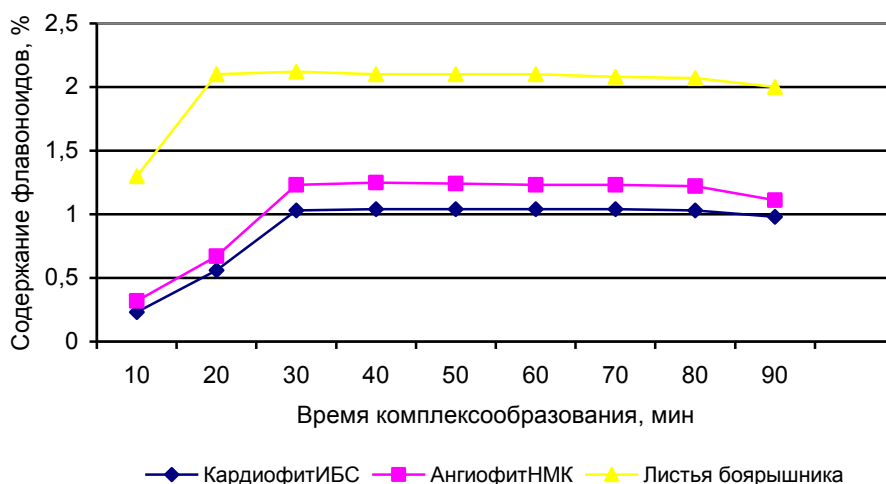


Рисунок 6.2.9. Содержание флавоноидов в зависимости от времени образования комплекса

Как видно из результатов, представленных на рисунках 6.2.7, 6.2.8 и 6.2.9, можно сделать вывод о том, что оптимальным для сбора «Кардиофит-ИБС» является добавление 2 мл комплексообразователя - 5% спиртового раствора $AlCl_3$, время образования комплекса составляет 30 мин и его стабильность сохраняется в течение 1,5 часа; для сбора «Ангиофит-НМК» - 3 мл комплексообразователя - 5% спиртового раствора $AlCl_3$, время образования комплекса составляет 25 мин, и его стабильность сохраняется в течение 1,5 часов; для листьев боярышника кроваво-красного - 2 мл комплексообразователя - 3% спиртового раствора $AlCl_3$, время об-

разования комплекса составляет 20 мин и его стабильность сохраняется в течение 1,5 часов.

Далее исследовано влияние измельченности сырья на содержание флавоноидов. Полученные результаты представлены на рисунке 6.2.10.

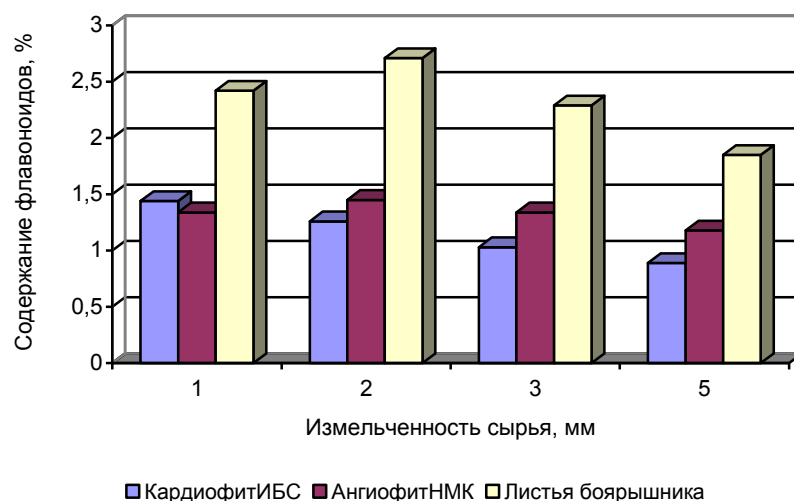


Рисунок 6.2.10. Содержание флавоноидов в зависимости от измельченности сырья

На основании полученных данных, можно сделать вывод о том, что наибольший выход флавоноидов наблюдается в сборе «Кардиофит-ИБС» при измельченности сырья до размера частиц 1 мм, сбора «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного - до 2 мм.

Таким образом, на основании проведенных исследований установлены оптимальные условия проведения количественного определения флавоноидов в исследуемых объектах (таблица 6.2.6).

Таблица 6.2.6 - Оптимальные условия проведения количественного определения флавоноидов

Показатели количественного определения	Кардиофит-ИБС	Ангиофит-НМК	Листья боярышника кроваво-красного
Длина волны	402 нм	410 нм	409 нм
Концентрация этилового спирта	40%	96%	80%
Измельченность сырья	1 мм	2 мм	2 мм
Соотношение сырья и экстрагента	1:50	1:100	1:200
Время экстракции	30 мин	30 мин	30 мин

Кратность экстракции	3	1	2
Концентрация комплексообразователя	5%	5%	3%
Количество комплексообразователя	2 мл	3 мл	2 мл
Время реакции комплексообразования	30 мин	25 мин	30 мин

После проведенных исследований предложена следующая *методика количественного определения суммы флавоноидов в сборе «Кардиофит-ИБС» в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье.*

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 2,0 г (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл и заливают 50 мл 40 % этилового спирта. Колбу нагревают на водяной бане с обратным холодильником 30 мин от начала кипения. Извлечение искусственно охлаждают, фильтруют в мерную колбу на 100 мл через бумажный фильтр, фильтр с содержимым вносят в колбу для экстрагирования, и экстракцию повторяют еще раз, в течение 30 минут, используя 45 мл 40 % этилового спирта. Извлечение фильтруют в ту же колбу, через бумажный фильтр. Сырье и фильтр промывают 5 мл 40 % этилового спирта, доводят объем извлечения 40% этиловым спиртом до метки и используют для анализа (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 4 мл полученного извлечения (раствора А), добавляют 2 мл 5 % спиртового раствора хлорида алюминия, 0,05 мл разведённой хлористоводородной кислоты и доводят объем в колбе 95 % этиловым спиртом до метки (раствор В). Содержимое колбы перемешивают и через 30 мин измеряют оптическую плотность на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 402 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 4 мл раствора А и 0,05 мл разведенной хлористоводородной кислоты (приготовленной из концентрированной хлористоводородной кислоты, при соотношении кислоты и воды очищенной 1:2), доведенный 95 % спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно проводят измерение ГСО рутина. Для этого 1 мл 0,05 % раствора ГСО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 5 % спиртового раствора алюминия хлорида, 0,05 мл разведённой хлористоводородной кислоты, доводят объём раствора спиртом этиловым 95 % до метки и перемешивают (раствор С). В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл 0,05 % раствора ГСО рутина и 0,05 мл разведенной хлористоводородной кислоты, доведенный спиртом этиловым 95% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Через 30 минут измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм.

Содержание суммы флавоноидов в процентах в пересчете на рутин на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$C \% = \frac{D \times V_1 \times a_0 \times 100 \times 100}{D_0 \times a \times V_2 \times (100 - W)} \quad (4) \text{ , где}$$

D -оптическая плотность анализируемого раствора;

D_0 - оптическая плотность ГСО рутина;

a_0 - количество ГСО рутина в спектрофотометрируемой пробе, г;

V_1 - объём раствора А, мл;

V_2 -объём извлечения для анализа, мл;

α - навеска сбора, г;

W- потеря в массе при высушивании, %.

Приготовление раствора ГСО рутина. Около 0,05 г (точная навеска) ГСО рутина (ФС 42-2508-87), высушенного при температуре 130-140°C, растворяют при нагревании на водяной бане в 80 мл спирта этилового 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объём раствора тем же растворителем после охлаждения до метки. Срок годности раствора 1 месяц.

Приготовление раствора алюминия хлорида 5%. 9 г алюминия хлорида 6-водного (ГОСТ 3759-75) растворяют в спирте этиловом 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объём раствора этим же растворителем до метки. Срок годности раствора 1 месяц при хранении в хорошо закупоренной таре.

Результаты количественного определения флавоноидов представлены в таблице 6.2.7.

Таблица 6.2.7 - Содержание флавоноидов в сборе «Кардиофит-ИБС», %

№ п/п	№ серии	Содержание флавоноидов в пересчёте на рутин, %
1.	Серия 1	1,64±0,08
2.	Серия 2	1,37±0,06
3.	Серия 3	1,73±0,07
4.	Серия 4	1,44±0,06
5.	Серия 5	1,73±0,08

Как видно из результатов, представленных в таблице, содержание флавоноидов в среднем составило от 1,37±0,06 до 1,73±0,08%. Была проведена метрологическая характеристика методики (таблица 6.2.8), согласно которой ошибка опыта в серии не превышает 4,88%, что говорит о достоверности результатов полученных исследований.

Таблица 6.2.8 - Метрологическая характеристика разработанной методики

Серия	f	$\bar{x}_{\text{ср}}$	S^2	S_x	P	T (P,f)	Δx	E
1.	4	1,64	0,00481	0,0311	95	2,57	0,08	4,88
2.	4	1,37	0,00236	0,0218	95	2,57	0,06	4,38
3.	4	1,73	0,00412	0,0288	95	2,57	0,07	4,05
4.	4	1,44	0,00289	0,0241	95	2,57	0,06	4,17
5.	4	1,73	0,00506	0,0319	95	2,57	0,08	4,62

После проведенных исследований нами предложена следующая *методика количественного определения суммы флавоноидов в сборе «Ангиофит-НМК» в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье.*

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1,0 г (точная навеска) сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл и добавляли 100 мл 95% этилового спирта. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 30 мин. Извлечение искусственно охлаждают, фильтруют,

избегая попадания частиц на фильтр, в колбу вместимостью 100 мл, отбрасывая первые 15-20 мл фильтрата, доводят объем до метки (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2 мл раствора А, прибавляют 3 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,1 мл 30% уксусной кислоты, доводят объем раствора 95% этиловым спиртом до метки и перемешивают (раствор В). Через 25 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий 2 мл раствора А, 0,1 мл 30% уксусной кислоты и 95% этиловый спирт до 25 мл.

Параллельно проводили измерение раствора ГСО рутина. Для этого 1 мл 0,05% раствора ГСО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 3 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,1 мл 30% уксусной кислоты, доводят объем раствора 95% этиловым спиртом до метки и перемешивают (раствор С). Через 25 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора в условиях, описанных выше, используя в качестве раствора сравнения раствор, содержащий 1 мл 0,05% раствора ГСО рутина, 0,1 мл 30% уксусной кислоты и 95% этилового спирта до 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в сборе в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X, %) вычисляют по формуле:

$$C \% = \frac{D \times V_1 \times a_0 \times 100 \times 100}{D_0 \times a \times V_2 \times (100 - W)} \quad (4), \text{ где}$$

D - оптическая плотность анализируемого раствора;

D₀ - оптическая плотность ГСО рутина;

a₀ - количество ГСО рутина в спектрофотометрируемой пробе, г;

V₁ - объем раствора А, мл;

V₂ - объем извлечения для анализа, мл;

α - навеска сбора, г;

W - потеря в массе при высушивании, %.

Результаты количественного содержания флавоноидов в пересчете на рутин в сборе «Ангиофит-НМК» в различных сериях представлены в таблице 6.2.9.

Таблица 6.2.9 - Количественное содержание флавоноидов
в сборе «Ангиофит-НМК», %

№ п/п	№ серии	Содержание флавоноидов в пересчете на рутин, %
1.	Серия 1	1,47±0,02
2.	Серия 2	1,37±0,01
3.	Серия 3	1,46±0,02
4.	Серия 4	1,63±0,07
5.	Серия 5	1,41±0,01

Согласно представленным в таблице данным, количественное содержание флавоноидов в пересчете на рутин в среднем составило от 1,37±0,01% до 1,63±0,07%. Метрологическая характеристика методики представлена в таблице 6.2.10, согласно которой ошибка опыта в серии не превышает 4,29%, что говорит о достоверности результатов полученных исследований.

Таблица 6.2.10 - Метрологическая характеристика разработанной методики

Серия	f	$\bar{x}_{\text{ср}}$	S^2	S_x	P	T (P,f)	Δx	E
1.	4	1,47	0,00035	0,0083	95	2,57	0,02	1,36
2.	4	1,37	0,00001	0,0050	95	2,57	0,01	0,73
3.	4	1,46	0,000056	0,0075	95	2,57	0,02	1,37
4.	4	1,63	0,00028	0,027	95	2,57	0,07	4,29
5.	4	1,41	0,00001	0,0044	95	2,57	0,01	0,71

После проведенных исследований нами предложена следующая *методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье.*

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм. Около 1 г (точная навеска) сырья помещают в колбу термостойкого стекла со шлифом вместимостью 200-250 мл, прибавляют 100 мл 80 % этилового спирта, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 минут. Полученное извлечение осторожно фильтруют через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу на 200 мл, избегая попадания частиц сырья в воронку. К оставшемуся в колбе сы-

рю прибавляют 100 мл 80 % этилового спирта, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 минут. Колбу охлаждают в течение 15 минут. Содержимое колбы фильтруют в мерную колбу с первой порцией извлечения через тот же бумажный фильтр. Оставшееся в колбе сырье ополаскивают 20 мл 80 % этилового спирта и фильтруют в мерную колбу. Полученное извлечение доводят в мерной колбе до 200 мл (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 3 мл раствора А, 2 мл 3% спиртового раствора хлорида алюминия, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты и доводят раствор до метки этиловым спиртом 95% (раствор В). Через 30 минут измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 409 нм в кювете толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 3 мл раствора А, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты, доведенный этиловым спиртом 95% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность комплекса раствора ГСО рутина с раствором алюминия хлорида: к 1 мл 0,05% раствора ГСО рутина прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты и доводят раствор этиловым спиртом 95% до 25 мл в мерной колбе (раствор С).

Содержание суммы флавоноидов (X) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье (в %) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 200 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot V \cdot (100 - W)} \quad (5), \text{ где}$$

D – оптическая плотность исследуемого раствора;

D₀ – оптическая плотность комплекса ГСО рутина с алюминия хлоридом;

m - навеска сырья, в граммах;

*m*₀- масса ГСО рутина в спектрофотометрируемой пробе, в граммах;

V – объем исследуемого раствора, взятого для анализа, мл;

W – потеря в массе сырья при высушивании, %.

Приготовление раствора алюминия хлорида 3%. 5,4 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 укупоренной таре.

Результаты количественного содержания флавоноидов в пересчете на рутин в листьях боярышника кроваво-красного в различных сериях представлены в таблице 6.2.11.

Таблица 6.2.11 - Количественное содержание флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного, %

№ п/п	№ серии	Содержание флавоноидов в пересчете на рутин, %
1.	Серия 1	2,38±0,01
2.	Серия 2	2,42±0,09
3.	Серия 3	2,41±0,02
4.	Серия 4	2,26±0,06
5.	Серия 5	2,35±0,02

Согласно полученным данным (таблица 6.2.11) содержание флавоноидов составило от 2,26±0,06% и до 2,41±0,09%. Метрологическая характеристика методики представлена в таблице 6.2.12.

Таблица 6.2.12 - Метрологическая характеристика разработанной методики

Серия	f	$\bar{x}_{cp}$	S^2	S_x	P	T (P,f)	Δx	E
1.	4	2,38	0,00009	0,0043	95	2,57	0,01	0,42
2.	4	2,41	0,00545	0,0331	95	2,57	0,09	3,73
3.	4	2,41	0,00033	0,0082	95	2,57	0,02	0,83
4.	4	2,26	0,00308	0,0249	95	2,57	0,06	2,66
5.	4	2,35	0,00027	0,0074	95	2,57	0,02	0,85

Согласно приведенной метрологической характеристике методики (таблица 6.2.12) ошибка опыта в серии не превышает 3,73%, что говорит о достоверности результатов полученных исследований.

В ходе исследования установлено, что разработанные методики доступны, занимают минимум рабочего времени, не требуют дорогостоящих реактивов и позволяют объективно оценивать качество исследуемых образцов.

Валидация методик

Согласно требованиям к стандартизации, неотъемлемой частью современного количественного анализа является валидация (оценка пригодности) используемых аналитических методик, которая включает в себя следующие характеристики: линейность, повторяемость, воспроизводимость и правильность [30]. Определение *линейности* проводили на 5 уровнях концентраций от теоретического содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в исследуемых объектах (таблица 6.2.13, рисунок 6.2.11). Растворы готовили путем разбавления аликвоты и увеличения аликвоты для измерения количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в растворах, имеющих концентрацию 50, 75, 100, 125 и 150%. Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции. Если его величина близка к единице, то совокупность данных можно описать прямой линией. Величина коэффициента корреляции должна быть не ниже 0,99.

Таблица 6.2.13 - Определение линейности методики

№ измерения	Аликвота, %	Аликвота, мл	Оптическая плотность, D	Содержание флавоноидов в аликвоте, С, мг
Сбор «Кардиофит-ИБС»				
1	50	2	0,234	10,4
2	75	3	0,356	15,8
3	100	4	0,436	19,4
4	125	5	0,580	25,8
5	150	6	0,720	32
Сбор «Ангиофит-НМК»				
1	50	1	0,174	15,5

2	75	1,5	0,239	21,3
3	100	2	0,313	27,9
4	125	2,5	0,378	33,6
5	150	3	0,445	39,6
Листья боярышника кроваво-красного				
1.	80	2,4	0,250	28,0
2.	90	2,7	0,285	31,9
3.	100	3,0	0,317	35,5
4.	110	3,3	0,349	39,0
5.	120	3,6	0,377	42,2

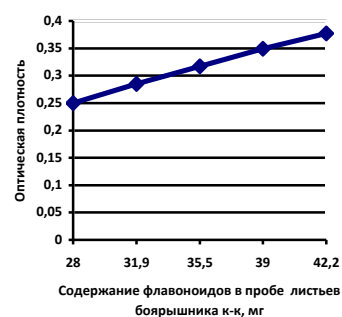
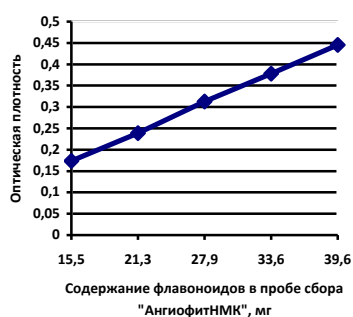
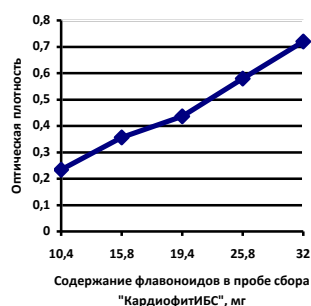


Рисунок 6.2.11. Зависимость оптической плотности растворов от концентрации флавоноидов

Данные для расчета коэффициента корреляции представлены в таблицах 6.2.14 и 6.2.15. Расчет производили, вычисляя коэффициент корреляции (глава 2, п.2.2.6.).

Таблица 6.2.14 - Данные для расчета коэффициента корреляции

D	C	DC	D ²	C ²
Сбор «Кардиофит-ИБС»				
0,234	10,4	2,43	0,055	108,16
0,356	15,8	5,63	0,127	249,64
0,436	19,4	8,46	0,190	376,36
0,580	25,8	14,95	0,336	665,64
0,720	32,0	23,04	0,518	1024,0
$\Sigma D=2,326$	$\Sigma C=103,4$	$\Sigma DC=54,51$	$\Sigma D^2=1,226$	$\Sigma C^2=2423,8$
Сбор «Ангиофит-НМК»				

0,174	15,5	2,697	0,03	240,25
0,239	21,3	5,091	0,06	453,69
0,313	27,9	8,733	0,097	778,41
0,378	33,6	12,701	0,14	1128,96
0,445	39,6	17,622	0,2	1568,16
$\Sigma D=1,549$	$\Sigma C=137,9$	$\Sigma DC=46,844$	$\Sigma D^2=0,53$	$\Sigma C^2=4169,47$
Листья боярышника кроваво-красного				
0,250	28,0	7,0	0,0625	784
0,285	31,9	9,1	0,081	1018
0,317	35,5	11,3	0,1005	1260
0,349	39,0	13,6	0,122	1521
0,377	42,2	15,9	0,142	1781
$\Sigma D=1,578$	$\Sigma C=176,6$	$\Sigma DC=56,9$	$\Sigma D^2=0,508$	$\Sigma C^2=6365$

Коэффициенты корреляции для исследуемых объектов составили более 0,99 (таблица 6.2.15). Следовательно, можно сказать, что методика является линейной.

Таблица 6.2.15 - Расчет коэффициента корреляции

Объекты исследования	$SS_x = \Sigma D^2 - (\Sigma D)^2/5$	$SS_y = \Sigma C^2 - (\Sigma C)^2/5$	$SP_{xy} = \Sigma DC - (\Sigma D \cdot \Sigma C)/5$	$r = SP_{xy} / \sqrt{SS_x \cdot SS_y}$
Кардиофит-ИБС	0,144	285,49	6,408	0,996
Ангиофит-НМК	0,05	336,2	4,23	0,991
Листья боярышника к-к	0,01	127,5	1,12	0,992

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

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

SP_{xy} - сумма попарных произведений;

r - коэффициент корреляции.

Повторяемость методики определяли на одном образце в 6 повторностях каждого объекта исследования (таблица 6.2.16). Критерий приемлемости выражался величиной относительного стандартного отклонения, которое не должно

превышать 10%. Он составил от 1,2 до 9,6%, что свидетельствует о прецизионности методик в условиях повторяемости.

Таблица 6.2.16 - Определение повторяемости разработанной методики

	X	d_i	d_i²	S²	S_x	ΔX	E_{отн}, %
Сбор «Кардиофит-ИБС»							
1	2,33	0,258	0,06656	0,05782	0,0982	0,24	9,3
2	2,34	0,248	0,06150				
3	2,55	0,038	0,00144				
4	2,66	-0,072	0,00518				
5	2,68	-0,092	0,00846				
6	2,97	-0,382	0,14592				
Среднее значение	2,588						
Сбор «Ангиофит-НМК»							
1	1,75	0,2	0,04	0,0042	0,065	0,15	9,7
2	1,71	0,16	0,0256				
3	1,4	-0,15	0,0225				
4	1,62	0,07	0,0049				
5	1,41	-0,14	0,0196				
6	1,43	-,0,12	0,0144				
Среднее значение	1,55						
Листья боярышника кроваво-красного							
1	2,38	-0,02	0,0003	0,0001	0,011	0,03	1,3
2	2,39	-0,01	0,0001				
3	2,38	-0,02	0,0003				
4	2,39	-0,01	0,0003				
5	2,45	0,05	0,0026				
6	2,41	0,01	0,0002				
Среднее значение	2,40						

где X - содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в исследуемом объекте, %.

Определение *воспроизводимости* методики выполняли два химика-аналитика в лабораториях ГКУЗ «Лекконтроль» и РЦККЛС БГМУ. Исследование проводили на 3 образцах в 3 повторностях (таблица 6.2.17, 6.2.18, 6.2.19). Критерий приемлемости выражался величиной относительного стандартного отклонения, которое не превышало 15%, что указывает на прецизионность методики в условиях воспроизводимости.

Правильность методики устанавливали путем измерения количественного содержания суммы флавоноидов в растворах, полученных путем добавления необходимого количества стандарта к исследуемому раствору. В разработанных методиках процент восстановления находился в пределах от 94,5 до 106,6% - в сборе «Кардиофит-ИБС» ($100 \pm 4,83\%$), от 97,8 до 100 % - в сборе «Ангиофит-НМК» ($100 \pm 1,9\%$) и от 99,5 до 100,6% ($100 \pm 0,75\%$) - в листьях боярышника кроваво-красного (таблица 6.2.20).

Таблица 6.2.17 - Определение воспроизводимости разработанной методики
(1 образец)

	X	d _i	d _i ²	S ²	S _x	ΔX	E _{отн} , %	
Сбор «Кардиофит-ИБС»								
1	1,89	0,19	0,03674	0,0345	0,0758	0,194	9,3	1 анали- тик
2	1,92	0,16	0,02614					
3	1,97	0,11	0,01247					
1	2,11	-0,03	0,00080					2 анали- тик
2	2,28	-0,2	0,03934					
3	2,32	-0,24	0,05680					
Среднее значение	2,08							
Сбор «Ангиофит-НМК»								
1	1,46	0,01	0,000049	0,0070	0,034	0,083	5,72	1 анали- тик
2	1,46	0,01	0,000049					
3	1,31	-0,14	0,02					
1	1,40	-0,05	0,0023					2 анали-

2	1,53	0,08	0,006					тик
3	1,53	0,08	0,0068					
Среднее значение	1,45							
Листья боярышника кроваво-красного								
1	2,38	0,06	0,0036	0,00494	0,0287	0,067	2,89	1 аналитик
2	2,39	0,07	0,0045					
3	2,38	0,06	0,0036					
1	2,26	-0,06	0,0042					2 аналитик
2	2,23	-0,09	0,0075					
3	2,28	-0,04	0,0013					
Среднее значение	2,32							

Таблица 6.2.18 - Определение воспроизводимости разработанной методики
(2 образец)

	X	d _i	d _i ²	S ²	S _x	ΔX	E _{отн} , %	
Сбор «Кардиофит-ИБС»								
1	2,33	0,26	0,06503	0,0565	0,097	0,249	9,6	1 аналитик
2	2,34	0,25	0,06003					
3	2,68	-0,09	0,00903					
1	2,54	0,05	0,00203					2 аналитик
2	2,66	-0,07	0,00563					
3	2,96	-0,37	0,14063					
Среднее значение	2,59							
Сбор «Ангиофит-НМК»								
1	1,463	0,003	0,000009	0,0062	0,032	0,082	5,62	1 аналитик
2	1,462	0,002	0,000004					
3	1,319	-0,141	0,01988					
1	1,48	0,02	0,0004					2 аналитик
2	1,477	0,017	0,000289					

3	1,561	0,101	0,010201					
Среднее значение	1,46							
Листья боярышника кроваво-красного								
1	2,38	-0,001	0,00000144	0,0017	0,0168	0,043	1,81	1 аналитик
2	2,45	0,07	0,0045					
3	2,41	0,03	0,00085					
1	2,34	-0,04	0,0016					2 аналитик
2	2,35	-0,03	0,001					
3	2,36	-0,02	0,00058					
Среднее значение	2,38							

Таблица 6.2.19 - Определение воспроизводимости разработанной методики
(3 образец)

	X	d _i	d _i ²	S ²	S _x	ΔX	E _{отн} , %	
Сбор «Кардиофит-ИБС»								
1	2,13	0,102	0,01034	0,0315	0,0724	0,186	8,2	1 аналитик
2	2,16	0,072	0,00514					
3	2,09	0,142	0,02007					
1	2,57	-0,338	0,11447					2 аналитик
2	2,16	0,172	0,00514					
3	2,28	-0,048	0,00234					
Среднее значение	2,232							
Сбор «Ангиофит-НМК»								
1	1,46	0,009	0,000081	0,0069	0,0339	0,087	6,01	1 аналитик
2	1,46	0,008	0,000064					
3	1,31	-0,134	0,017956					
1	1,47	0,02	0,0004					2 аналитик
2	1,42	-0,027	0,000729					
3	1,57	0,124	0,015376					

Среднее значение	1,448							
Листья боярышника кроваво-красного								
1	2,41	0,0902	0,0081	0,0079	0,0345	0,085	3,66	1 аналитик
2	2,41	0,0902	0,0081					
3	2,4	0,075	0,0056					
1	2,24	- 0,0777	0,006					2 аналитик
2	2,28	- 0,0395	0,00156					
3	2,22	- 0,1006	0,01012					
Среднее значение	2,322							

где X - содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в исследуемых образцах, %.

Таблица 6.2.20 - Определение правильности методики

Объём экстракта в аликвоте, мл	Содержание флавоноидов в аликвоте, мг	Добавлено ГСО рутин, мг	Ожидаемое содержание, мг	Полученное содержание, мг	Ошибка, (отн., %)
Сбор «Кардиофит-ИБС»					
0,5	0,3289	0,5	0,8289	0,7828	-0,00461 (5,5%)
1	0,6578	0,5	1,1578	1,2343	+0,07650 (6,6%)
1,5	0,9867	0,5	1,7367	1,6945	-0,04220 (2,4%)
Среднее значение					100± 4,83%
Сбор «Ангиофит-НМК»					
0,5	0,139009	0,5	0,639009	0,625	-0,014 (2,19%)
1	0,278017	0,5	0,778017	0,764	-0,014 (1,8%)
1,5	0,417026	0,5	0,917026	0,901	-0,0156 (1,7%)
Среднее значение					100 ±1,9%
Листья боярышника кроваво-красного					
2	0,203	0,5	0,703	0,707	0,004 (0,57%)
2,5	0,248	0,5	0,748	0,744	-0,004 (0,53%)
3,0	0,296	0,5	0,796	0,810	0,041 (1,76%)
3,5	0,345	0,5	0,845	0,846	0,001 (0,12%)
Среднее значение					100±0,75%

Таким образом, проведена валидационная оценка методик количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в сборах «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьях боярышника кроваво-красного по линейности, воспроизводимости, повторяемости и правильности. Установлено, что разработанные методики спектрофотометрического количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин являются правильными и воспроизводимыми, что позволяет включить их в проекты нормативной документации на соответствующие объекты исследования [237, 247].

6.3. Разработка нормативной документации на листья боярышника кроваво-красного, сборы «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»

Разработка методики количественного анализа микроскопическим методом

Исследования проводились по методикам, разработанным Самылиной И.А. и Потаниной О.Г. [164, 165]. В качестве диагностически значимых признаков учитывали основные анатомо-диагностические признаки ЛРС (глава 4, п.4.1., глава 5, п.5.1.). Расчет проводили по следующей формуле:

$$X = \frac{ДЗП \cdot 100\%}{ЗП + НЗП} \quad (6), \text{ где}$$

ДЗП – количество диагностически значимых признаков в микропрепарате;

НЗП – количество незначимых анатомических признаков в микропрепарате.

Первым этапом исследования определили количество диагностически значимых признаков в каждом растительном сырье по отдельности.

Вторым этапом было выявление ДЗП каждого растения в растительных сборах. Результаты исследования проявляемости диагностически значимых признаков в ЛРС и в сборах на основании статистической обработки данных 15 измерений представлены на рисунках 6.3.1. и 6.3.2.

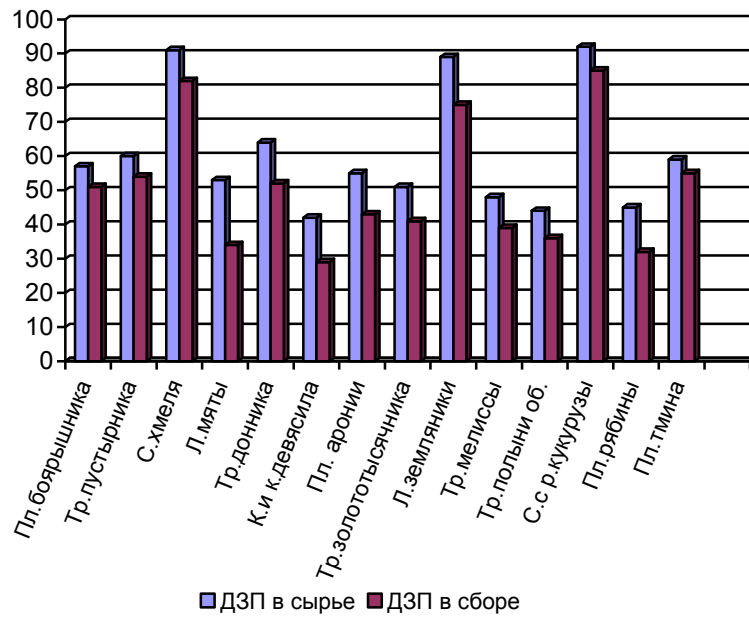


Рисунок 6.3.1. Проявляемость ДЗП в ЛРС и сборе «Кардиофит-ИБС»

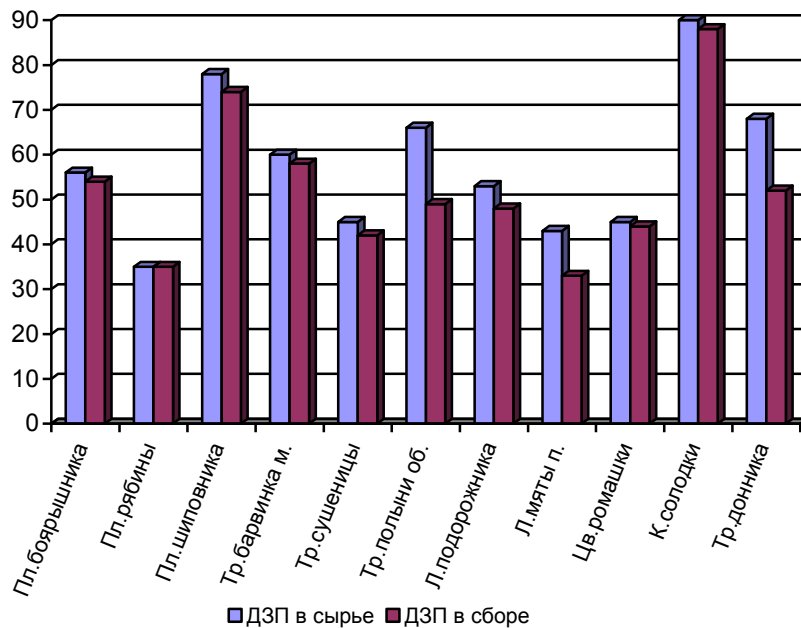


Рисунок 6.3.2. Проявляемость ДЗП в ЛРС и сборе «Ангиофит-НМК»

Анализируя полученные данные видно, что процент проявления ДЗП компонентов в сборах несколько снижается. Это связано с большим количеством компонентов ЛРС в сборах, и, как следствие этого, с более высокой ошибкой определения диагностически незначимых признаков сырья в сборе. Результаты данных ДЗП столбиков с рыльцами кукурузы, соплодий хмеля, листьев земляни-

ки лесной показали наиболее высокую проявляемость. ДЗП листьев мяты перечной показали низкую проявляемость в сборе, что может быть связано с тем, что данное сырье взято в половинном количестве. Показатель ДЗП корневищ и корней девясила в сборе также был ниже нормы из-за малого содержания по объёму в сборе, так как это тяжелое сырье. ДЗП плодов боярышника, аронии черноплодной и рябины схожи между собой, что повышает вероятность ошибки их определения в сборе. Это и наблюдается по снижению проявляемости ДЗП данных видов сырья в сборе. Трава пустырника, листья мяты перечной и трава мелиссы лекарственной имеют также схожие ДЗП, т.к. эти растения принадлежат к одному семейству *Lamiaceae*, что снижает проявляемость ДЗП при их совместном присутствии в сборе.

Авторы методики проявляемости ДЗП для стандартизации сборов предлагают проводить расчет для каждого компонента и сравнение его с нормативом [165]. Но данный метод можно использовать лишь для малокомпонентных сборов (2-5 видов ЛРС), так как, во-первых это достаточно трудоемкая и длительная процедура, и во-вторых, в многокомпонентном сборе достаточно сложно, а порой и невозможно определить к какому компоненту сбора относится те или иные диагностически незначимые признаки, которые также необходимо подсчитать для расчета показателя ДЗП. Нами же предлагается рассмотрение сбора как единого целого. В этом случае, мы подсчитываем все диагностически значимые признаки, характерные для каждого компонента сбора и суммируем их между собой, и диагностически незначимые в целом. И расчет производим по той же формуле (6), подставляя в числитель сумму диагностически значимых признаков всех компонентов сбора, а в знаменатель - сумму диагностически значимых сбора и всех диагностически незначимых признаков.

Среднее значение количества диагностически значимых частиц сбора «Кардиофит-ИБС» составило $51,16 \pm 5,56\%$, сбора «Ангиофит-НМК» - $52,98 \pm 3,84\%$, листьев боярышника кроваво-красного - $39,44 \pm 3,81\%$ (таблица 6.3.1).

Таблица 6.3.1 - Метрологическая характеристика методики определения
диагностически значимых признаков исследуемых объектов

F	$\bar{x}_{cp}$	S^2	S_x	P	T (P,f)	Δx	E, %
14	51,16	102,014	2,610	95	2,13	5,56	10,87
14	52,98	48,670	1,803	95	2,13	3,84	7,25
14	39,44	47,988	1,790	95	2,13	3,81	9,67

Таким образом, усовершенствование данной методики количественной оценки проявления диагностически значимых признаков в лекарственном растительном сырье даёт возможность определить стандартность лекарственного растительного сырья и внедрить этот показатель в качестве дополнительного метода стандартизации сбора.

Микроскопический анализ используется в основном для подтверждения подлинности лекарственного растительного сырья и состава сборов, а для количественной оценки многокомпонентных смесей растительного происхождения наибольшее распространение получили физико-химические методы анализа биологически активных веществ. Но количественная оценка по сумме веществ, присутствующих в компонентах сбора, не даёт точного представления о процентном содержании каждого компонента в сборе [164].

Для проверки компонентного состава сбора «Кардиофит-ИБС» были определены индексы участия (встречаемость диагностически значимых частиц ЛРС в микропрепарате).

Индексы участия (J) 1-го компонента сбора (в %) подсчитывали по формуле:

$$J = \frac{a}{a+b+c+\dots+n} \times 100\%, \text{ где} \quad (7)$$

a - число диагностически значимых частиц 1-го компонента, b - 2-го компонента, c - 3-го компонента, n - n-го компонента [164].

Аналогично рассчитывали индексы участия для других компонентов. Затем рассчитывали доверительные интервалы этих индексов для каждого компонента. Индексы участия компонентов сбора «Кардиофит-ИБС» должны находиться в рассчитанных пределах (таблица 6.3.2.).

Таблица 6.3.2 - Индексы участия компонентов сбора «Кардиофит-ИБС»

Компоненты сбора	Содержание, %
Плоды боярышника	5,41±1,00
Трава пустырника	6,24±1,28
Листья мяты перечной	3,45±0,66
Трава донника	10,79±3,08
Корневища и корни девясила	3,36±0,66
Плоды аронии черноплодной	5,77±0,93
Трава золототысячника	7,85±1,07
Листья земляники лесной	7,45±2,05
Трава Melissa лекарственной	11,91±2,48
Соплодия хмеля	6,89±1,75
Трава полыни обыкновенной	5,96±1,44
Плоды рябины	6,08±1,41
Плоды тмина	6,93±0,75
Столбики с рыльцами кукурузы	10,93±1,38

На основании проведенных исследований построена следующая гистограмма (рисунок 4.4.3).

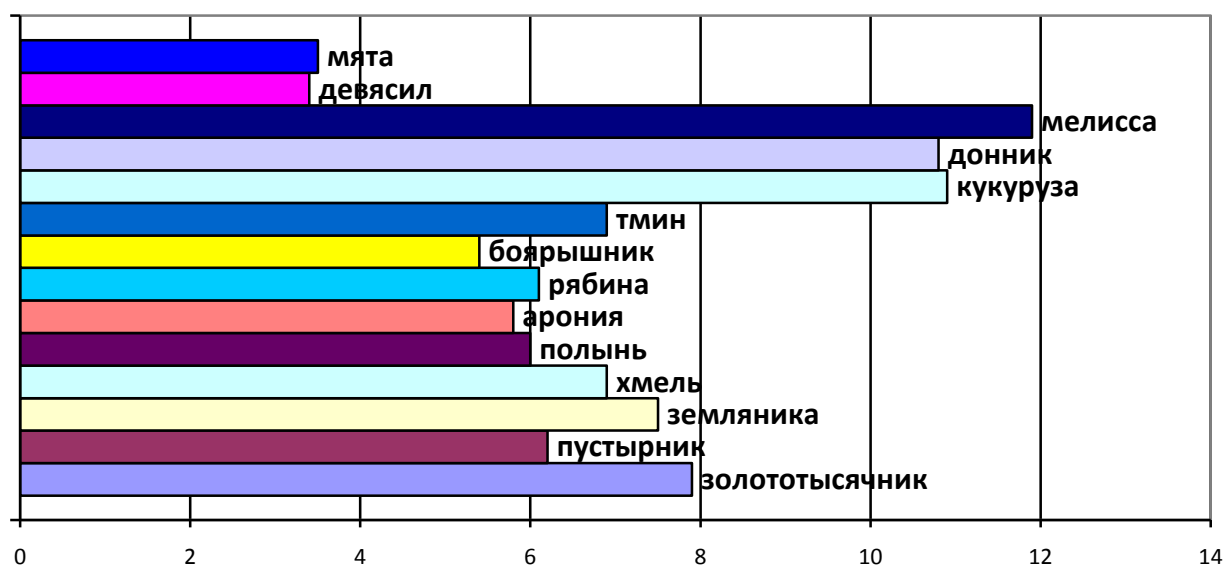


Рисунок 6.3.3. Гистограмма индексов участия компонентов сбора «Кардиофит-ИБС»

Как видно из полученных результатов, представленных на рисунке 6.3.3, у компонентов сбора «Кардиофит-ИБС», взятых по одной части, индексы участия составили от 5 до 8% в зависимости от морфологической группы сырья: плоды - от 5 до 6%, трава, листья - от 6 до 8%. У компонентов, взятых по 2 части, индекс участия - от 10 до 12%. Исключением стали столбики с рыльцами кукурузы, которые были взяты по одной части, но их индекс участия составил около 11%. Это связано с лёгкостью и тонкостью данного вида сырья и, как следствие, высокой проявляемостью ДЗП. Корневища и корни девясила показали самый низкий индекс участия (около 3%). Это тяжелое ЛРС, имеет более крупные частицы и, соответственно, низкую проявляемость диагностически значимых признаков (таблица 6.3.2).

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что индексы участия компонентов сбора зависят от морфологической группы сырья и способны отражать технологические нарушения приготовления сборов, заключающиеся либо в нарушении соотношения компонентов в сборе, либо в использовании нестандартного сырья. Индексы участия ЛРС будут снижаться при совместном присутствии с компонентами, имеющими близкие значения ДЗП (например, плоды боярышника, рябины и аронии черноплодной или листья мяты перечной и трава ме-

лиссы лекарственной). На основании данных результатов, можно сказать, что практически у любого сбора можно предположить индексы участия компонентов, зная его рецептуру.

Для проверки данной гипотезы, были сначала теоретически рассчитаны, а потом экспериментально проверены индексы участия компонентов сбора «Ангиофит-НМК».

Сбор «Ангиофит-НМК» включает в себя 11 различных видов ЛРС: 3 вида плодов - боярышника, шиповника и рябины; 4 вида трав - донника, барвинка малого, полыни обыкновенной, сушеницы топяной; 2 вида листьев - мяты перечной, подорожника большого; цветки ромашки и корни солодки. Все компоненты взяты по одной части, трава донника - 2 части. Согласно теоретическим расчетам индексы участия трав и листьев должны составить 9%, плодов - 7,5%, корней - около 4,5%, цветков - около 12%, травы донника (2 части) - около 15%.

Полученные экспериментальные данные расчета индексов участия компонентов сбора «Ангиофит-НМК» представлены в таблице 6.3.3.

Таблица 6.3.3 - Индексы участия компонентов сбора «Ангиофит-НМК»

Компоненты сбора	Содержание, %	
	Теоретическое	Экспериментальное
Плоды боярышника	7,5	7,41±0,91
Плоды рябины	7,5	7,25±1,12
Плоды шиповника	7,5	6,94±1,00
Корни солодки	4,5	4,32±0,70
Трава донника	15	16,42±1,51
Трава сушеницы топяной	9	9,21±1,20
Трава полыни обыкновенной	9	8,81±1,32
Трава барвинка малого	9	9,14±1,35
Листья мяты перечной	9	8,73±1,67
Листья подорожника большого	9	9,13±1,92
Цветки ромашки	12	11,41±2,21

Полученные результаты подтвердили наши предположения (таблица 6.3.3). Следовательно, по индексам участия можно говорить не только о качестве ЛРС, из которого был составлен тот или иной сбор, но и о заявленной рецептуре растительной композиции.

Таким образом, разработана методика стандартизации исследуемых объектов по количественному содержанию ДЗП в сборе микроскопическим методом, и рассчитаны индексы участия каждого компонента в сборах.

Разработка методики качественного анализа

Для качественной характеристики исследуемых объектов предлагается использовать метод тонкослойной хроматографии, как высокочувствительный, не требующий сложного оборудования, отличающийся относительно высокой скоростью проведения анализа.

Методика качественного ТСХ-анализа сбора «Кардиофит-ИБС». Около 1,0 г сбора, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещают в колбу вместимостью 50 мл, приливают 10 мл 40% этилового спирта и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 20 мкл испытуемого раствора и по 5 мкл 0,05% раствора СО рутина, гиперозида и кверцетина. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей: этилацетат - муравьиная кислота - вода (8:1:1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворителя и просматривают в УФ-свете. На хроматограмме испытуемого раствора при длине волны

365 нм должна обнаруживаться три основных зоны адсорбции бурого цвета на уровне СО рутина, гиперозида и кверцетина (рисунок 6.3.4). Допускается обнаружение дополнительных зон.

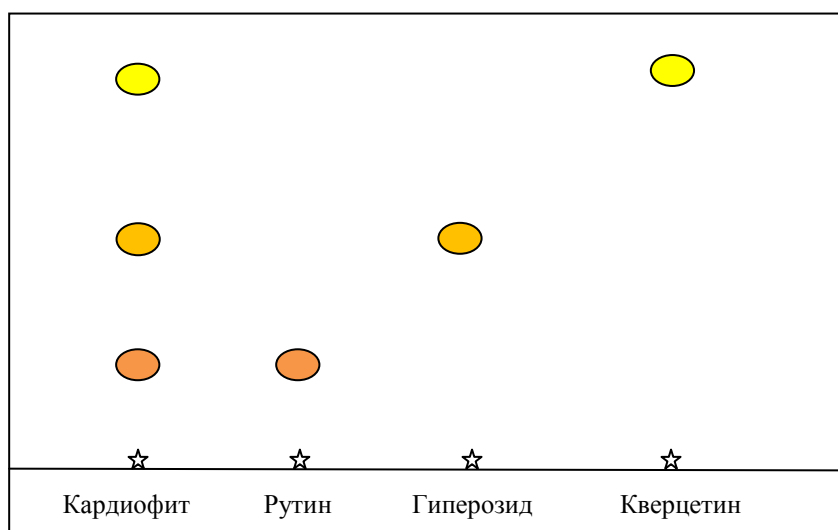


Рисунок 6.3.4. Схема хроматограммы сбора «Кардиофит-ИБС» в системе этилацетат - муравьиная кислота - вода (8:1:1).

На основании данных исследований, нами предлагается эта методика хроматографического анализа сбора «Кардиофит-ИБС» для включения в раздел «Качественные реакции» в проект ФСП (Приложение 2).

Методика качественного ТСХ-анализа сбора «Ангиофит-НМК». Около 1,0 г сбора, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещают в колбу вместимостью 50 мл, заливают 10 мл 95% этилового спирта и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытываемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 20 мкл испытываемого раствора и по 5 мкл 0,05% растворов СО рутина, СО кофейной кислоты и СО хлорогеновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей: этилацетат-муравьиная кислота-уксусная кислота-вода (100:11:11:13), и хроматографируют восходящим спосо-

бом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворителя и просматривают в УФ-свете. На хроматограмме испытуемого раствора при длине волны 365 нм должны обнаруживаться 3 основные зоны адсорбции на уровне СО рутина бурого цвета, на уровне СО кофейной кислоты голубого цвета и на уровне СО хлорогеновой кислоты голубого цвета (рисунок 6.3.5). Допускается обнаружение дополнительных зон.

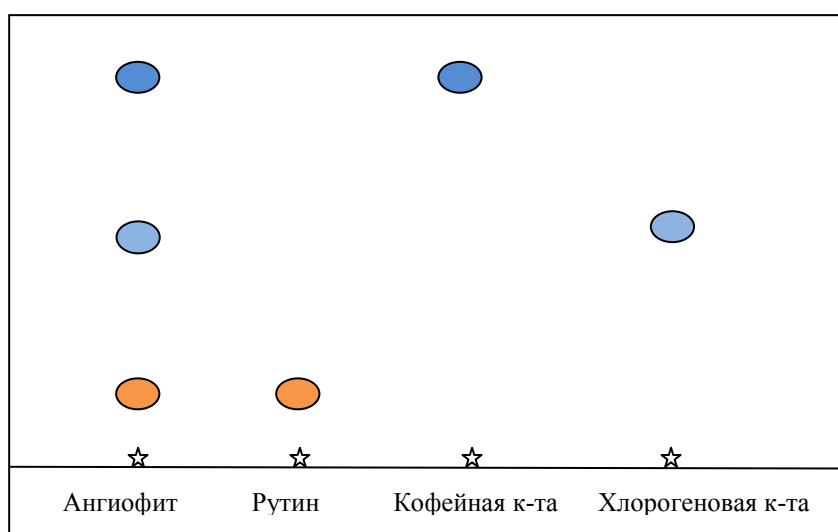


Рисунок 6.3.5. Схема хроматограммы сбора «Ангифит-НМК» в системе этилацетат-муравьиная кислота-уксусная кислота-вода (100:11:11:13).

На основании данных исследований, нами предлагается эта методика хроматографического анализа сбора «Ангифит-НМК» для включения в раздел «Качественные реакции» в проект ФСП (Приложение 3).

При разработке методики качественного анализа листьев боярышника кроваво-красного предварительно изучены методики качественного анализа сырья боярышника, описанные в Фармакопеях разных стран (таблица 6.3.4).

Анализируя данные таблицы 6.3.4. видно, что для качественного анализа различных видов ЛРС боярышника применяется метод ТСХ с использованием различных систем растворителей и СО гиперозида, рутина, витексина, хлорогеновой кислоты. В Американской травяной Фармакопее предлагается проведение

качественного анализа методами ТСХ и ВЭЖХ. Время удерживания для хлорогеновой кислоты, витексина, рутина и гиперозида определяется по соответствию пикам на хроматограммах растворов сравнения.

Таблица 6.3.4 - Качественные реакции на ЛРС боярышника
в Фармакопеях разных стран

ЛРС	Фармакопея	Методы качественного анализа
«Плоды боярышника – Fructus Crataegi»	Государственная Фармакопея СССР XI издания	Подтверждается присутствие гиперозида методом ТСХ в системе метанол-хлороформ (8:2) восходящим способом в присутствии ГСО гиперозида [55].
«Цветки боярышника – Flores Crataegi»	Государственная Фармакопея СССР XI издания	Подтверждается присутствие гиперозида методом ТСХ в системе метанол-хлороформ (8:2) восходящим способом в присутствии ГСО гиперозида [55].
«Боярышника листья с цветками – Hawthorn leaf with flower»	Американская травяная Фармакопея	Методом ТСХ метанольного извлечения сырья в системе этилацетат-вода-ЛУК-МК (10:2,6:1,1:1,1) восходящим способом подтверждается присутствие рутина, хлорогеновой кислоты, гиперозида и витексина (проводится в присутствии раствора стандартных веществ). Пятна проявляются метанольным раствором 2-аминоэтил дифенилбората и метанольным раствором полиэтиленгликоля-4000. После высушивания пятна просматриваются в УФ-свете: рутин – оранжевое пятно, $R_f=0,3$; хлорогеновая кислота – светло-голубая флуоресценция, $R_f=0,4$; гиперозид – желтовато-оранжевое, $R_f=0,55$; витексин – желтовато-зеленое, $R_f=0,65$; витексин-2-рамнозид – желтовато-зеленое, $R_f=0,35$; спиреозид – светло-голубая флуоресценция, $R_f=0,6$; кофейная кислота – светло-голубая флуоресценция, $R_f=0,9$. Качественный анализ флавоноидов проводится методом ВЭЖХ. Относительное время удерживания для основных пиков на хроматограмме: 1,53 - для ацетилвитексин-2''-О-рамнозида, 1,0 - для витексина, 0,73 - для изовитексина, 0,67 - витексин-2''-О-рамнозида. Время удерживания для хлорогеновой кислоты, витексина, рутина и гиперозида определяется по соответствию пикам на хроматограмме раствора сравнения (используется тот же, что и для ТСХ) [372].
«Боярышника листья и	Европейская Фар-	Методом ТСХ в системе муравьиная кислота

цветки – Hawthorn leaf and flower»	макопея Британская Фармакопея Белорусская Фармакопея	- вода – метилэтилкетон – этилацетат (10:10:30:50) восходящим способом подтверждается присутствие гиперозида и хлорогеновой кислоты в присутствии свидетелей. Пятна проявляются после обработки раствором аминоэтилового эфира дифенилкарбоновой кислоты в метаноле и раствором макрогола-400 в метаноле, а затем пластинку просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм (гиперозид – желтовато-оранжевая флуоресценция, хлорогеновая кислота – светло-голубая) [53,286, 302].
«Боярышника листья – Folia Crataegi»	Белорусская Фармакопея	Качественные реакции на флавоноиды (по реакции взаимодействия спиртового экстракта листьев сот спиртовым раствором алюминия хлорида – зеленовато-желтое окрашивание) и процианидины (появление после нагревания красного окрашивания при добавлении раствора кислоты хлористоводородной в бутаноле и раствора железоаммонийных квасцов) [53].

При проведении хроматографических исследований (глава 4, п. 4.2.) мы остановились на 4 системах растворителей, одна из которых предлагается и Американской травяной Фармакопеей. В системах растворителей, предлагаемой ГФ-ХІ издания, не происходит разделения веществ не только в листьях боярышника, но и в цветках и плодах, для которых они были предложены. При проведении сравнительного анализа хроматограмм листьев, цветков и плодов боярышника кроваво-красного наилучшее разделение веществ было достигнуто в системах растворителей этилацетат - муравьиная кислота - вода (14:3:3) и муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота - вода - метанол - ацетон – хлороформ (6:6:7,5:12,5:30:60) и оказалось, что их легко можно отличить по расположению и количеству пятен (рисунок 6.3.6).

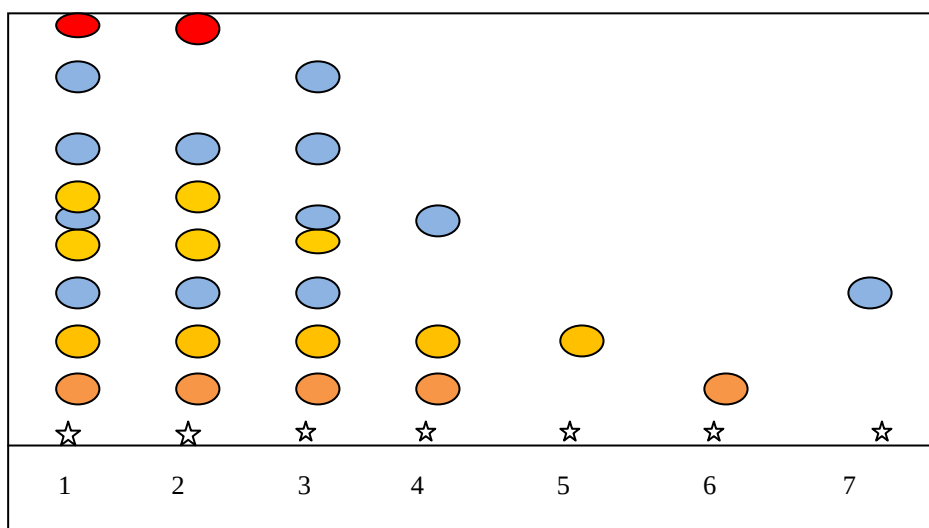


Рисунок 6.3.6. Схема хроматограммы листьев, листьев с цветками, цветков, плодов боярышника кроваво-красного в системе муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота - вода - метанол - ацетон – хлороформ (6:6:7,5:12,5:30:60) (1 – листья с цветками боярышника кроваво-красного, 2 – листья боярышника кроваво-красного, 3 – цветки боярышника кроваво-красного, 4 – плоды боярышника кроваво-красного, 5 – гиперозид, 6 – рутин, 7 – хлорогеновая кислота).

Нами разработана следующая методика качественного анализа листьев боярышника кроваво-красного.

Методика качественного ТСХ-анализа листьев боярышника кроваво-красного. Около 1,0 г сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещают в колбу вместимостью 50 мл, заливают 10 мл 80% этилового спирта и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 20 мкл испытуемого раствора и 5 мкл 0,05% растворов СО рутина, СО гиперозида и СО хлорогеновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей: этилацетат - муравьиная кислота - вода (14:3:3), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из каме-

ры, сушат в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворителя и просматривают в УФ-свете. На хроматограмме испытуемого раствора при длине волны 365 нм должны обнаруживаться 3 основные зоны адсорбции на уровне СО рутина бурого цвета, на уровне СО гиперозида бурого цвета и на уровне СО хлорогеновой кислоты голубого цвета (рисунок 6.3.7). Допускается обнаружение дополнительных зон.

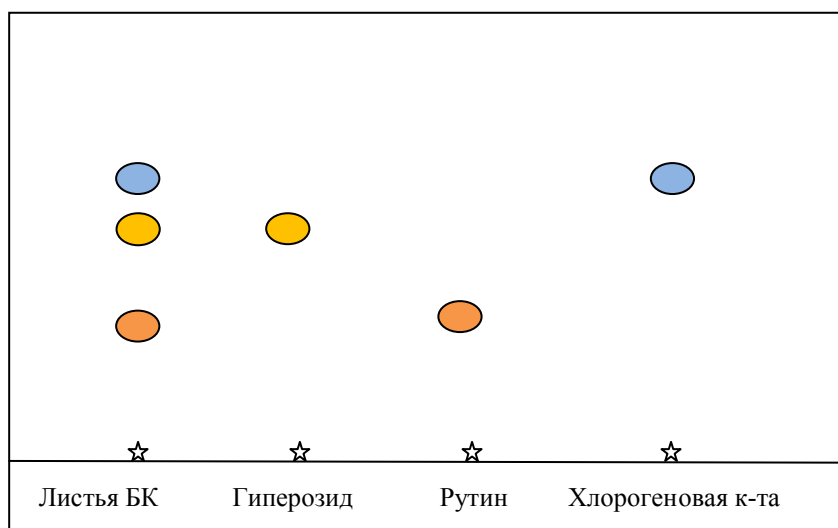


Рисунок 6.3.7. Схема хроматограммы листьев боярышника кроваво-красного в системе этилацетат - муравьиная кислота - вода (14:3:3).

На основании данных исследований, нами предлагается данная методика хроматографического анализа сбора листьев боярышника кроваво-красного для включения в раздел «Качественные реакции» в проект ФС (Приложение 1).

Числовые показатели качества исследуемых объектов определяли в аналитических пробах образцов, взятых от пяти партий, изготовленных в лабораторных условиях в пяти повторностях по методикам, приведенным в ГФ XI и ГФ XII изд. Образцы хранили в мешках тканевых (ГФ XI) в сухом, чистом, хорошо проветриваемом помещении, не зараженном амбарными вредителями, без прямого попадания солнечных лучей.

Согласно требованиям ОСТ 91500.05.001-00 в раздел проекта ФСП «Числовые показатели для цельного и измельченного сырья» должны быть включены нормативы влажности, зольности и примесей, содержание фармакологически ак-

тивных веществ, допустимых примесей [150]. Определение данных показателей проводили в соответствии с требованиями статей ГФ XII, ГФ XI (глава 2, п. 2.2.2). Результаты определения представлены в таблицах 6.3.5, 6.3.6, 6.3.7.

Числовые показатели, в соответствии с полученными данными, должны иметь следующие граничные величины:

- для сбора «Кардиофит-ИБС» - содержание флавоноидов в пересчёте на рутин - не менее 1,2%, потери в массе при высушивании - не более 10%, золы общей - не более 8%, частиц, не проходящих сквозь сито 5 мм - не более 12%, проходящих сквозь сито 0,5 мм - не более 6%, органической примеси - не более 3%, минеральной примеси - не более 2%, ДЗП - не менее 40%.
- Для сбора «Ангиофит-НМК» - содержание флавоноидов в пересчёте на рутин - не менее 1,3%, потери в массе при высушивании - не более 10%, золы общей - не более 8%, частиц, не проходящих сквозь сито 5 мм - не более 10%, проходящих сквозь сито 0,5 мм - не более 4 %, органической примеси - не более 1 %, минеральной примеси - не более 0,5%, ДЗП - не менее 45%.
- Для листьев боярышника кроваво-красного - содержание флавоноидов в пересчете на рутин - не менее 1,5%, ДЗП - не менее 30%, потери в массе при высушивании - не более 10%, золы общей - не более 10%, частиц, не проходящих сквозь сито 5 мм - не более 10%, частиц, проходящих сквозь сито 0,5 мм - не более 4%, органической примеси - не более 1%, минеральной примеси - не более 0,5%.

Таблица 6.3.5 - Результаты анализа 5 серий сбора «Кардиофит-ИБС»

Номер серии	Показатели качества									Соответствие требованиям проекта ФСП
	Качественные реакции	Числовые показатели								
		Содержание флавоноидов в пересчёте на рутин, % (не менее 1,2%)	Влажность не более 10%	Золы об- щей не более 8%	Орг. при- месей не более 3%	Мин. при- месей не более 2%	ДЗП, не ме- нее 40%	Измельченность:		
								част., не прох. d=5 мм не бо- лее 12%	част., прох. d=0,5 мм не более 6%	
1.	соответств.	1,56	6,76	6,14	2,15	1,46	49,4	9,70	3,57	соответств.
	соответств.	1,70	6,78	6,40	1,96	1,55	48,5	9,49	3,36	соответств.
	соответств.	1,64	6,69	6,24	1,89	1,57	50,1	9,97	3,57	соответств.
	соответств.	1,44	6,87	5,74	1,90	1,63	51,5	9,54	4,01	соответств.
	соответств.	1,78	6,54	6,23	2,12	1,43	45,2	10,51	4,21	соответств.
2.	соответств.	1,85	6,19	6,40	2,51	1,30	53,6	8,92	3,91	соответств.
	соответств.	1,74	5,13	6,75	2,43	1,14	52,3	8,76	3,93	соответств.
	соответств.	1,73	5,29	6,89	2,42	1,03	51,5	8,97	3,95	соответств.
	соответств.	1,94	6,15	6,41	2,40	1,35	53,2	8,58	3,75	соответств.
	соответств.	1,98	5,34	6,13	2,45	1,09	52,1	7,89	3,21	соответств.
3.	соответств.	1,48	5,42	6,88	2,64	1,52	47,3	10,15	3,86	соответств.
	соответств.	1,50	5,35	6,53	2,56	1,47	48,3	10,49	4,08	соответств.
	соответств.	1,62	5,76	6,50	2,50	1,59	47,5	9,90	3,97	соответств.
	соответств.	1,37	5,56	6,77	2,53	1,56	48,5	10,40	4,00	соответств.
	соответств.	1,56	5,34	6,34	2,45	1,45	46,3	9,12	3,12	соответств.
4.	соответств.	1,92	6,73	6,72	2,63	1,47	48,5	8,93	3,69	соответств.
	соответств.	1,33	6,96	6,89	2,55	1,47	47,9	8,77	3,33	соответств.
	соответств.	1,42	6,79	6,41	2,34	1,39	49,8	9,11	3,97	соответств.
	соответств.	1,73	6,81	6,40	2,54	1,35	47,0	8,76	3,51	соответств.
	соответств.	1,56	6,45	6,54	2,78	1,65	45,3	8,89	3,43	соответств.

5.	COOTBETCTB.	2,05	7,09	6,37	2,26	1,07	45,3	9,28	3,57	COOTBETCTB.
	COOTBETCTB.	1,72	7,21	6,89	2,34	1,16	45,4	8,94	3,40	COOTBETCTB.
	COOTBETCTB.	1,51	6,72	7,20	2,04	1,22	47,4	9,58	3,45	COOTBETCTB.
	COOTBETCTB.	1,97	7,00	6,96	2,05	1,10	46,8	9,29	3,56	COOTBETCTB.
	COOTBETCTB.	1,89	7,12	6,88	2,12	1,09	45,1	8,76	3,12	COOTBETCTB.

Таблица 6.3.6 - Результаты анализа 5 серий сбора «Ангиофит-НМК»

Номер серии	Показатели качества									Соответствие требованиям проекта ФСП	
	Качественные реакции	Числовые показатели									
		ТСХ-анализ	Содержание флавоноидов в пересчёте на рутин, % (не менее 1,3%)	Влажность не более 10%	Золы об- щей не более 8%	Орг. при- месей не более 1%	Мин. при- месей не более 0,5%	ДЗП, не ме- нее 45%	Измельченность:		
									част., не прох. d=5 мм не бо- лее 10%		част., прох. d=0,5 мм не бо- лее 4%
1.	соответств.	1,66	5,76	5,14	0,65	0,36	59,4	8,70	2,57	соответств.	
	соответств.	1,60	5,78	6,40	0,66	0,35	58,5	8,49	2,36	соответств.	
	соответств.	1,54	4,69	5,24	0,79	0,37	50,1	8,97	2,57	соответств.	
	соответств.	1,53	5,87	4,74	0,70	0,23	51,5	8,54	2,01	соответств.	
	соответств.	1,62	5,78	5,35	0,65	0,23	52,1	7,98	2,35	соответств.	
2.	соответств.	1,75	5,19	5,40	0,51	0,30	53,6	7,92	2,91	соответств.	
	соответств.	1,68	5,13	6,75	0,43	0,14	52,3	7,76	2,93	соответств.	
	соответств.	1,73	5,29	4,89	0,42	0,03	51,5	7,97	2,95	соответств.	
	соответств.	1,69	4,15	6,41	0,40	0,35	53,2	7,58	2,75	соответств.	
	соответств	1,67	5,25	5,65	0,43	0,34	54,1	7,98	2,14	соответств.	
3.	соответств.	1,48	4,42	5,88	0,64	0,22	53,3	6,15	2,86	соответств.	
	соответств.	1,50	4,35	5,53	0,56	0,37	52,3	6,49	3,08	соответств.	
	соответств.	1,52	5,76	4,50	0,50	0,29	52,5	6,90	2,97	соответств.	
	соответств.	1,47	5,56	4,77	0,53	0,36	51,5	7,40	3,12	соответств.	
	соответств.	1,65	5,43	5,21	0,43	0,23	50,9	6,57	2,45	соответств.	
4.	соответств.	1,72	5,73	4,72	0,63	0,27	56,5	7,93	2,69	соответств.	
	соответств.	1,83	5,96	5,89	0,55	0,27	53,9	6,77	2,33	соответств.	
	соответств.	1,72	5,79	4,41	0,34	0,39	51,8	6,11	2,97	соответств.	
	соответств.	1,73	5,81	4,40	0,54	0,35	51,0	7,76	2,51	соответств.	
	соответств.	1,67	5,87	5,78	0,45	0,27	52,9	6,54	2,12	соответств.	

5.	соответств.	1,75	6,09	5,37	0,26	0,07	52,3	6,28	2,57	соответств.
	соответств.	1,52	6,21	6,89	0,34	0,16	50,4	7,94	3,40	соответств.
	соответств.	1,65	6,72	5,20	0,84	0,22	51,4	6,58	3,45	соответств.
	соответств.	1,67	6,12	4,96	0,75	0,10	52,8	7,29	3,56	соответств.
	соответств.	1,87	6,54	4,65	0,56	0,32	52,1	6,78	3,21	соответств.

Таблица 6.3.7 - Результаты анализа 5 серий листьев боярышника кроваво-красного

Номер серии	Показатели качества									Соответствие требованиям проекта ФС
	Качественные реакции	Числовые показатели								
		Содержание флавоноидов, % (не менее 1,5%)	Влажность не более 10%	Золы об- щей не более 10%	Орг. при- месей не более 1,0%	Мин. при- месей не более 0,5%	ДЗП, не ме- нее 30%	Измельченность:		
								част., не прох. d=5 мм не более 10%	част., прох. d=0,5 мм не бо- лее 4%	
1.	соответств.	2,27	3,75	8,14	0,7	0,4	39,4	8,7	3,5	соответств.
	соответств.	2,33	3,78	7,40	0,6	0,3	38,5	8,4	3,3	соответств.
	соответств.	2,32	3,69	8,24	0,5	0,3	40,1	8,9	3,5	соответств.
	соответств.	2,24	3,87	7,74	0,5	0,3	41,5	8,5	3,1	соответств.
	соответств.	2,12	3,67	7,14	0,5	0,31	40,2	7,6	3,1	соответств.
2.	соответств.	2,39	3,89	7,40	0,5	0,3	35,6	7,9	2,9	соответств.
	соответств.	2,41	4,13	7,75	0,4	0,3	35,3	7,7	3,0	соответств.
	соответств.	2,45	4,29	7,89	0,4	0,3	34,5	7,9	2,9	соответств.
	соответств.	2,40	3,95	7,41	0,4	0,3	34,2	7,5	3,1	соответств.
	соответств.	2,12	4,12	7,23	0,3	0,2	35,1	7,8	3,2	соответств.
3.	соответств.	2,37	3,42	8,88	0,6	0,4	45,3	8,1	2,8	соответств.
	соответств.	2,39	3,35	8,53	0,5	0,3	42,3	8,4	3,0	соответств.
	соответств.	2,38	3,76	8,50	0,5	0,5	41,5	7,9	2,9	соответств.
	соответств.	2,35	3,56	8,77	0,5	0,5	42,5	8,4	3,0	соответств.
	соответств.	2,32	4,32	8,41	0,5	0,4	41,2	7,6	2,5	соответств.
4.	соответств.	2,26	3,73	7,72	0,6	0,4	38,5	7,9	3,1	соответств.
	соответств.	2,23	3,96	7,89	0,5	0,4	37,9	7,7	3,2	соответств.
	соответств.	2,28	3,79	7,41	0,4	0,3	39,8	8,1	2,9	соответств.
	соответств.	2,24	3,81	7,40	0,4	0,3	37,0	7,1	3,1	соответств.
	соответств.	2,11	3,12	7,65	0,4	0,2	35,2	7,7	2,7	соответств.

5.	COOTBETCTB.	2,38	4,13	9,37	0,6	0,4	42,3	7,2	2,5	COOTBETCTB.
	COOTBETCTB.	2,41	4,43	8,89	0,4	0,3	45,4	6,9	2,4	COOTBETCTB.
	COOTBETCTB.	2,45	4,35	9,20	0,4	0,3	44,4	7,5	2,4	COOTBETCTB.
	COOTBETCTB.	2,41	4,29	8,96	0,5	0,4	42,8	7,2	2,5	COOTBETCTB.
	COOTBETCTB.	2,31	4,36	8,56	0,4	0,3	41,2	7,6	2,4	COOTBETCTB.

Сроки годности устанавливались на основании экспериментального изучения стабильности опытных партий объектов исследования в упаковке и оптимальных условиях хранения в соответствии с рекомендациями нормативной документации (глава 2, п. 2.2.2.). Стабильность сырья изучали путем периодического и систематического контроля показателей качества: влажности сырья, количественного содержания флавоноидов в сборах и листьях боярышника кроваво-красного (таблицы 6.3.8, 6.3.9, 6.3.10).

Таблица 6.3.8 - Определение сроков годности сбора «Кардиофит-ИБС»

№ серии	Срок хранения	Влажность, %	Содержание флавоноидов, % (в пересчете на рутин)
1	1 год	4,89±0,23	1,68±0,02
2	1 год	5,13±0,24	1,60±0,09
3	1 год	5,29±0,13	1,62±0,08
1	2 года	5,52±0,23	1,54±0,08
2	2 года	5,10±0,18	1,49±0,08
3	2 года	5,13±0,22	1,47±0,06
1	3 года	5,82±0,26	1,37±0,07
2	3 года	5,65±0,28	1,36±0,08
3	3 года	6,56±0,20	1,34±0,08
1	4 года	5,96±0,26	1,29±0,05
2	4 года	5,78±0,24	1,07±0,07
3	4 года	6,75±0,23	1,15±0,05

Таблица 6.3.9 - Определение сроков годности сбора «Ангиофит-НМК»

№ серии	Срок хранения	Влажность, %	Содержание флавоноидов, % (в пересчете на рутин)
1	1 год	5,82±0,22	1,77±0,04
2	1 год	5,45±0,23	1,72±0,08
3	1 год	5,23±0,23	1,71±0,05
1	2 года	5,65±0,21	1,64±0,06
2	2 года	5,78±0,18	1,59±0,07
3	2 года	5,91±0,21	1,57±0,07

1	3 года	5,82±0,25	1,47±0,07
2	3 года	5,55±0,23	1,46±0,05
3	3 года	6,65±0,22	1,45±0,05
1	4 года	5,78±0,22	1,30±0,07
2	4 года	5,86±0,23	1,21±0,07
3	4 года	5,75±0,21	1,12±0,05

Таблица 6.3.10 - Определение сроков годности листьев боярышника кроваво-красного

№ серии	Срок хранения	Влажность, %	Содержание флавоноидов, % (в пересчете на рутин)
1	1 год	3,12±0,23	2,45±0,02
2	1 год	4,39±0,24	2,41±0,09
3	1 год	2,77±0,13	2,25±0,08
1	2 года	3,52±0,23	2,24±0,08
2	2 года	4,10±0,18	2,23±0,08
3	2 года	3,13±0,22	2,07±0,06
1	3 года	3,82±0,26	1,96±0,07
2	3 года	4,65±0,28	1,87±0,08
3	3 года	3,56±0,20	1,76±0,08
1	4 года	3,96±0,26	1,49±0,05
2	4 года	4,78±0,24	1,47±0,07
3	4 года	3,75±0,23	1,45±0,05

Согласно полученным данным, числовые показатели остаются в пределах разработанных норм качества для сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК», для листьев боярышника кроваво-красного в течение 3 лет.

Для исследуемых объектов определяли микробиологическую чистоту и содержание радионуклидов (глава 2, п.2.2.2.). Микробиологическую чистоту определяли на базе лаборатории бактериологических исследований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии РБ», содержание радионуклидов – в Центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава. Результаты исследований показали, что все исследуемые объекты соответствуют требованиям,

предъявляемым ст.32 ГФ XII «Микробиологическая чистота» и ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Выводы к главе 6

1. С использованием современных методов анализа в листьях боярышника кроваво-красного, сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» установлено содержание флавоноидов, органических кислот, кумаринов, суммы дубильных соединений, сапонинов, аскорбиновой кислоты, полисахаридов, каротиноидов, эфирных масел, ряда аминокислот, макро- и микроэлементов.
2. Разработана методика количественной оценки качества сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» по проявляемости анатомических диагностически-значимых признаков, критерий которого предложен как показатель качества. Рассчитаны индексы участия компонентов в сборах.
3. Разработаны методики качественного анализа методом ТСХ сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного.
4. Разработаны методики количественного определения флавоноидов в сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» и листьях боярышника кроваво-красного в пересчете на рутин и проведена их валидация.
5. Разработаны числовые показатели для сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного для разработки нормативной документации. Для сбора «Кардиофит-ИБС» - содержание флавоноидов в пересчёте на рутин - не менее 1,2%, потери в массе при высушивании - не более 10%, золы общей - не более 8%, частиц, не проходящих сквозь сито 5 мм - не более 12%, проходящих сквозь сито 0,5 мм - не более 6%, органической примеси - не более 3%, минеральной примеси - не более 2%, ДЗП - не менее 40%. Для сбора «Ангиофит-НМК» - содержание флавоноидов в пересчёте на рутин - не менее 1,3%, потери в массе при высушивании - не более 10%, золы общей - не более 8%, частиц, не проходящих сквозь сито 5 мм - не более 10%, проходящих сквозь сито 0,5 мм - не более 4 %, органической примеси - не более 1 %, минеральной примеси - не более 0,5%, ДЗП - не менее 45%. Для листьев боярышника кроваво-красного - содержание флавоноидов в пересчете на рутин - не менее 1,5%, ДЗП - не менее 30%, потери в массе при высушивании - не более 10%, золы общей - не более 10%, частиц, не проходящих сквозь сито 5 мм - не более 10%, частиц, проходящих сквозь

сито 0,5 мм - не более 4%, органической примеси - не более 1%, минеральной примеси - не более 0,5%.

6. Определены сроки годности сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК», листьев боярышника кроваво-красного - 3 года.

7. Разработаны проекты ФСП на два новых сбора и проект ФС листа боярышника кроваво-красного.

ГЛАВА 7. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НА ОСНОВЕ СБОРОВ И ЛИСТЬЕВ БОЯРЫШНИКА КРОВАВО-КРАСНОГО

Научные исследования, проводимые в последние годы в области создания новых эффективных лекарственных средств растительного происхождения, связаны преимущественно с разработкой комплексных препаратов. Это, прежде всего, лекарственные сборы и чаи, а также разработка лекарственных форм на их основе: экстракционных, гранулированных, таблетированных и ампулированных форм, мазей, суппозиториев и др. [59, 147, 156, 187, 188, 284].

7.1. Изучение оптимальных условий получения водных извлечений из сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»

При разработке проекта нормативной документации на сборы планировалось, чтобы в дальнейшем их реализация осуществлялась через аптечные учреждения в виде фасованной продукции или в фильтр-пакетах, следовательно, их использование предполагается в виде водного извлечения.

В сборы входят различные морфологические группы ЛРС, следовательно, в соответствии с ГФ XI возможно получение водных извлечений 2 типов: настои и отвары [56].

При расчете количества экстрагента (воды очищенной) устанавливали $K_{\text{п}}$ - коэффициент водопоглощения сбора. Согласно «Инструкции по изготовлению в аптеках жидких лекарственных форм» (приказ №308 МЗ РФ) коэффициент водопоглощения для листьев мяты перечной равен 2,4 мл/г, плодов рябины - 1,5 мл/г, травы полыни - 2,1 мл/г, травы пустырника - 2,0 мл/г, соплодий хмеля - 3,2 мл/г, плодов шиповника - 1,1 мл/г, листьев подорожника большого - 2,8 мл/г, цветков

ромашки - 3,4 мл/г, корней солодки - 1,7 мл/г. Для корней и корневищ, не указанных в отдельном списке, рекомендуется использовать коэффициент - 1,5 мл/г, для травы - 2,0 мл/г, семян и плодов - 3 мл/г. Таким образом, исходя из количественного содержания различных видов растительного сырья в сборах, был рассчитан теоретически коэффициент водопоглощения разработанных сборов, который составил для сбора «Кардиофит-ИБС» 2,13 мл/г, для сбора «Ангиофит-НМК» - 2,36 мл/г.

Экспериментально установлены коэффициенты водопоглощения (глава 2, п.2.2.5.), которые составили для сбора «Кардиофит-ИБС» $2,2 \pm 0,09$ мл/г, для сбора «Ангиофит-НМК» - $2,4 \pm 0,1$ мл/г. Исходя из полученных теоретических и экспериментальных данных, можно предположить, что для сборов достаточно теоретически рассчитать коэффициент водопоглощения, не используя экспериментальные исследования.

Проведен сравнительный анализ химического состава настоя и отвара, приготовленных из сборов в соотношении 1:10 методом ГФ XI по содержанию сухого остатка, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты и флавоноидов. Экспериментально установили, что процентное содержание исследуемых групп БАВ в настое выше, чем в отваре сборов (рисунок 7.1.1)

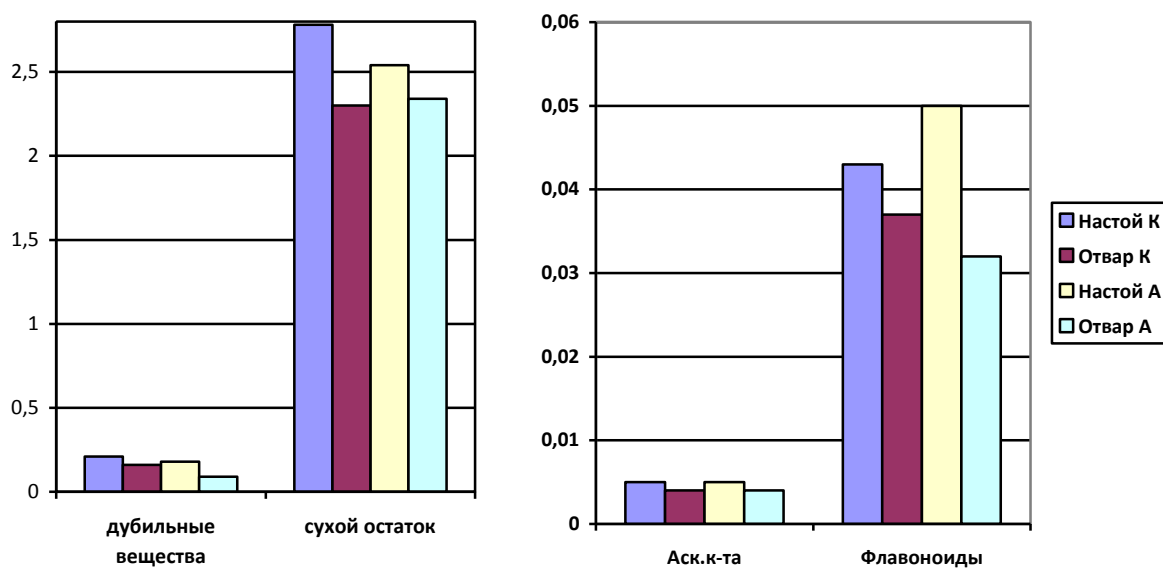


Рисунок 7.1.1. Сравнительный анализ химического состава настоя и отвара из сборов «Кардиофит-ИБС» (К) и «Ангиофит-НМК» (А)

По ГФ XI настои готовятся в различных соотношениях (1:10, 1:20, 1:30). В литературе имеются данные, что для сборов предпочтительнее готовить водные извлечения в соотношении 1:50 [153, 188]. В связи с этим, был проведен сравнительный анализ качества настоев, изготовленных в различных соотношениях. Качество полученных настоев определяли по содержанию различных групп БАВ. Полученные результаты представлены в таблице 7.1.1.

Таблица 7.1.1 - Сравнительный анализ содержания БАВ в настоях разных концентраций

Соотношение сырья и экстрагента	Сухой остаток, %		Флавоноиды, %		Дубильные вещества, %		Аскорбиновая кислота, мг %	
	Кардио-фит-ИБС	Ангио-фит-НМК	Кардио-фит-ИБС	Ангио-фит-НМК	Кардио-фит-ИБС	Ангио-фит-НМК	Кардио-фит-ИБС	Ангио-фит-НМК
1:5	4,76± 0,23	3,16± 0,13	0,034±0 ,002	0,042± 0,002	0,30± 0,01	0,25± 0,01	3,30± 0,23	3,99± 0,14
1:10	2,78± 0,05	2,54± 0,05	0,043±0 ,013	0,05± 0,01	0,21± 0,01	0,18± 0,01	5,66± 0,53	5,12± 0,23
1:20	1,70± 0,08	1,87± 0,09	0,025±0 ,006	0,021± 0,003	0,10± 0,001	0,13± 0,001	2,49± 0,23	2,34± 0,29
1:30	1,06± 0,05	1,11± 0,05	0,018±0 ,002	0,017± 0,002	0,06± 0,003	0,09± 0,003	2,09± 0,40	1,91± 0,20
1:40	2,26± 0,09	1,14± 0,09	0,014±0 ,008	0,012± 0,008	0,04±0,0 01	0,05± 0,001	1,85± 0,10	1,75± 0,10
1:50	1,06± 0,05	1,01± 0,05	0,014±0 ,003	0,012± 0,003	0,04± 0,003	0,05± 0,003	1,47± 0,06	1,57± 0,06
1:60	0,62± 0,03	0,54± 0,03	0,008±0 ,003	0,01± 0,003	0,01± 0,001	0,03± 0,001	1,49± 0,10	1,39± 0,10
1:70	0,44± 0,02	0,41± 0,02	0,007±0 ,003	0,008± 0,003	0,01± 0,001	0,02± 0,001	1,30± 0,06	1,27± 0,06

Как видно из результатов, представленных в таблице, количественное содержание БАВ в настоях максимально при соотношении сырья и экстрагента 1:5 и 1:10. Использование соотношения 1:5 нерационально, так как происходит незначительный выход водного извлечения и большой расход ЛРС.

Методики приготовления водных извлечений, приведенные в ГФ XI, приказе № 308 МЗ РФ, инструкциях по применению ЛРС и в литературе по фитотерапии отличаются режимами настаивания [153, 166, 265]. Проведено исследование настоев, приготовленных по разным методикам. Использованы методика, описанная в Государственной Фармакопее XI издания (ГФ), методика приготовления настоя в микроволновой печи - сырье заливали необходимым количеством воды очищенной (1:10) и настаивали в микроволновой печи в течение 15-20 минут при 50% мощности печи (МП); методика, рекомендуемая болгарскими фитотерапевтами - при тех же соотношениях сырье заливали холодной водой, доводили до кипения, кипятили 5 минут на медленном огне и настаивали 20 минут (БФ), сырье в тех же соотношениях заливали кипящей водой и настаивали 40 минут до охлаждения при комнатной температуре (К). В настоях, приготовленных различными методами, определяли содержание сухого остатка, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты и флавоноидов. Результаты исследования представлены в таблице 7.1.2.

Таблица 7.1.2 - Сравнительный анализ химического состава настоев
в зависимости от режима настаивания

Методика приготовления настоя	Содержание биологически активных веществ, %							
	Дубильные вещества		Сухой остаток		Аскорбиновая кислота мг %		Флавоноиды	
	Кардио-фит-ИБС	Ангио-фит-НМК	Кардио-фит-ИБС	Ангио-фит-НМК	Кардио-фит-ИБС	Ангио-фит-НМК	Кардиофит-ИБС	Ангио-фит-НМК
Методика ГФ	0,21± 0,01	0,18±0,01	2,78±0,05	2,54±0,05	5,66± 0,53	5,12±0,23	0,04± 0,003	0,05±0,00 2
Методика МП	0,12± 0,01	0,14±0,01	1,25±0,06	1,78±0,06	1,83± 0,25	2,56±0,15	0,04± 0,002	0,04±0,00 2

Методика БФ	0,20± 0,01	0,17±0,01	1,47±0,07	1,65±0,06	3,17± 0,44	4,34±0,11	0,04± 0,002	0,05±0,00 3
Методика К	0,12± 0,01	0,13±0,01	1,35±0,07	1,25±0,04	2,02± 0,17	3,56±0,15	0,04± 0,002	0,04±0,00 2

Учитывая проведенные исследования, рекомендуется приготовление настоев из сборов по методике ГФ XI издания при соотношении сырья и воды 1:10 [246].

Выпуск сборов также планируется в виде фильтр-пакетов, но в действующей ГФ и приказах информация о приготовлении водных извлечений из фильтр-пакетов отсутствует [209].

Фильтр-пакеты представляют собой дозированную одноразовую упаковку для выпуска ЛРС, в том числе сборов, в котором сырье расфасовано по 1,5 - 2 г в пакеты из фильтровальной бумаги, используемой специально для фасовки чая и лекарственных трав, и измельчено до размера частиц 2 мм и. В связи с отсутствием нормативной документации на изготовление водных извлечений из фильтр-пакетов, нами был проведен сравнительный анализ настоев, полученных из фильтр-пакетов и сборов измельченных с использованием фармакопейной методики. Для изготовления фильтр-пакетов использовалась нетермосвариваемая фильтровальная бумага плотностью 12,5г/м² шириной 94 мм марки KAN (Китай). Настои сбора «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» из фильтр-пакета имели хорошие органолептические характеристики, а при сравнении с водными извлечениями из измельченных сборов, практически не уступали им в содержании основных групп БАВ. Результаты исследования представлены в таблице 7.1.3.

В результате экспериментальных исследований получены данные, позволяющие сделать заключение о возможности использования фильтр-пакетов в качестве дозированной лекарственной упаковки для сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» для приготовления настоев в домашних условиях в соответствии с методикой ГФ.

Таблица 7.1.3 - Содержание БАВ в настоях из сбора измельченного и фильтр-пакета

Настой	Содержание биологически активных веществ, %							
	Дубильные вещества		Сухой Остаток		Аскорбиновая кислота, мг %		Флавоноиды	
	Кардио-фит-ИБС	Ангиофит-НМК	Кардио-фит-ИБС	Ангиофит-НМК	Кардио-фит-ИБС	Ангиофит-НМК	Кардио-фит-ИБС	Ангиофит-НМК
Из сбора измельченного	0,21± 0,01	0,18± 0,01	2,78± 0,05	2,54± 0,05	5,66± 0,53	5,12± 0,23	0,04± 0,002	0,05± 0,002
Из фильтр-пакета	0,20± 0,01	0,17± 0,01	2,39± 0,07	2,37± 0,05	5,83± 0,26	5,16± 0,19	0,04± 0,002	0,05± 0,002

На основании проведенных исследований для сбора «Кардиофит-ИБС», выпускаемого в фильтр-пакетах рекомендуются следующие числовые показатели: содержание флавоноидов в пересчёте на рутин - не менее 1,2%, потери в массе при высушивании - не более 10 %, золы общей - не более 8%, частиц, не проходящих сквозь сито 2 мм - не более 10 %, проходящих сквозь сито 0,5 мм - не более 6%, органической примеси - не более 3 %, минеральной примеси - не более 2 %, ДЗП - не менее 40%.

На основании проведенных исследований для сбора «Ангиофит-НМК», выпускаемого в фильтр-пакетах рекомендуются следующие числовые показатели: содержание флавоноидов в пересчёте на рутин - не менее 1,3%, потери в массе при высушивании - не более 10%, золы общей - не более 8%, частиц, не проходящих сквозь сито 2 мм - не более 8 %, проходящих сквозь сито 0,5 мм - не более 5 %, органической примеси - не более 1 %, минеральной примеси - не более 0,5%, ДЗП - не менее 45%.

Для сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» предлагается следующая методика приготовления настоя из фильтр-пакетов для включения в инструкцию по применению: 4 фильтр-пакета (по 2 г) сбора помещают в эмалированную

посуду, заливают 200 мл кипящей воды, закрывают крышкой и настаивают 45 мин периодически надавливая на пакетики ложкой, затем отжимают. Принимают по 1/2 стакана 4 раза в день за 15-20 минут до еды.

7.2. Разработка жидких экстрактов из сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»

Одним из путей использования растительных сборов является применение их в виде настоек и экстрактов, поскольку они содержат комплекс веществ как липофильных, так и гидрофильных с антиоксидантными свойствами (флавоноиды, полифенолы, аскорбиновая кислота, токоферолы). Преимуществом природных антиоксидантов является их сродство с компонентами мембран клеток в отличие от некоторых синтетических антиоксидантов, проявляющих побочные эффекты, в частности способствующих утечке Ca^{2+} из мембран. Кроме этого, флавоноиды и каротиноиды растений, входящих в состав спиртосодержащих фитопрепаратов, образуют обратимые лабильные комплексы с молекулярным кислородом, такие, как оксо-, супероксо- и пероксокомплексы, в результате частичного переноса заряда между молекулами кислорода и данными веществами, что увеличивает их антиоксидантное и антигипоксическое действие [9, 222]. Использование экстрактов значительно расширит ассортимент комплексных фитопрепаратов, так как на их основе возможно приготовление различных лекарственных форм. Кроме того, современные технологические подходы позволяют получать экстракты, содержащие в концентрированном виде основные действующие биологически активные вещества, благодаря которым определяется высокая фармакологическая активность [250].

В качестве лекарственной формы выбраны жидкие экстракты 1:1, так как они обладают рядом преимуществ: имеют одинаковое соотношение между действующими веществами, содержащимися в лекарственном растительном сырье и

готовом препарате; не требуют упаривания экстрагента, тем самым удаления летучих веществ; удобство в отмеривании [126]. Для выбора оптимального экстрагента для получения жидких экстрактов в сборах «Ангиофит-НМК» и «Кардиофит-ИБС» был определен выход экстрактивных веществ с использованием воды и этилового спирта различной концентрации (таблица 7.2.1).

Таблица 7.2.1 - Выход экстрактивных веществ из сборов

№	Экстрагент	Содержание экстрактивных веществ, %	
		Ангиофит-НМК	Кардиофит-ИБС
1.	Вода очищенная	24,72±0,12	27,90±1,24%
2.	40% этиловый спирт	27,01±0,08	34,64±1,81%
3.	70% этиловый спирт	28,08±0,15	28,90±1,74%
4.	90% этиловый спирт	14,12±0,46	22,48±1,31%
5.	95% этиловый спирт	12,24±0,13	21,12±1,25%

Наибольший выход экстрактивных веществ наблюдался при использовании в качестве экстрагентов - 40% и 70% этиловый спирт.

Жидкие экстракты (1:1) из сборов «Ангиофит-НМК» и «Кардиофит-ИБС» получали с использованием методов перколяции и модификации реперколяции (глава 2, п.2.2.5). Жидкие экстракты, приготовленные с использованием 70% этилового спирта, представляют собой жидкости зеленовато-бурого цвета с характерным ароматным запахом и сладковато-горьким вкусом. Жидкие экстракты на 40% этиловом спирте представляют собой жидкости красновато-бурого цвета, с ароматным запахом и сладковато-горьким вкусом.

Определение БАВ в жидких лекарственных формах проводили по методикам, по которым анализировали сборы. Качественными реакциями (гл. 2, п. 2.2.3.1) доказано наличие в жидких экстрактах конденсированных дубильных веществ, аскорбиновой кислоты, флавоноидов.

Количественный анализ флавоноидов проводили по разработанным нами спектрофотометрическим методикам для сборов, дубильных веществ и аскорбиновой кислоты - согласно фармакопейной методике окислительно-восстановительного титрования (глава 2, п. 2.2.3.2). Результаты исследования

представлены в таблице 7.2.2.

Таблица 7.2.2 - Количественное содержание основных групп биологически активных веществ в жидких лекарственных формах

№ п/п	Лек. форма /метод получения / Экстрагент	Содержание флавоноидов, %	Содержание аскорбиновой кислоты, мг %	Содержание дубильных веществ, %
1.	ЖЭ Кардиофит-ИБС (перколяция, 70% этиловый спирт)	0,30±0,01	25,08±1,32	0,71±0,04
2.	ЖЭ Кардиофит-ИБС (мо- дификация реперколяции, 70% этиловый спирт)	0,23±0,01	21,55±1,02	0,69±0,03
3.	ЖЭ Кардиофит-ИБС (перколяция, 40% этиловый спирт)	0,33±0,03	32,81±1,32	1,45±0,09
4.	ЖЭ Кардиофит-ИБС (мо- дификация реперколяции, 40% этиловый спирт)	0,27±0,01	24,54±1,12	1,37±0,05
5.	ЖЭ Ангиофит-НМК (перколяция, 70% этиловый спирт)	0,60±0,02	36,08±1,76	2,40±0,11
6.	ЖЭ Ангиофит-НМК (модификация реперколя- ции, 70% этиловый спирт)	0,30±0,01	25,52±1,08	1,19±0,04
7.	ЖЭ Ангиофит-НМК (перколяция, 40% этиловый спирт)	0,60±0,03	30,80±1,25	1,69±0,05
8.	ЖЭ Ангиофит-НМК (модификация реперколя- ции, 40% этиловый спирт)	0,28±0,01	22,88±1,02	0,94±0,03

Из результатов, представленных в таблице видно, что наибольшее количество БАВ содержится в жидких экстрактах, полученных методом перколяции.

Проведено определение относительной биологической доступности *in vitro* жидких экстрактов, полученных с использованием 40% и 70 % этилового спирта, методом диализа через полупроницаемую мембрану по Кривчинскому (глава 2, п. 2.2.5.). В качестве облигатного раствора использовали раствор хлористоводородной кислоты с рН 5,8. Результаты исследования представлены на рисунке 7.2.1.

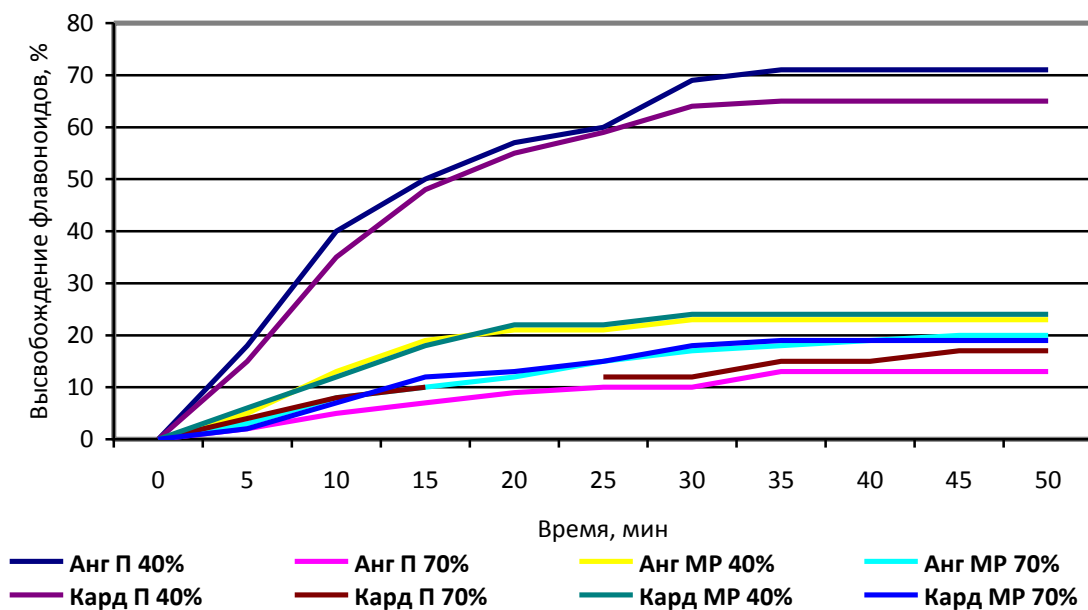


Рисунок 7.2.1. Кинетические кривые высвобождения флавоноидов при диализе через полупроницаемую мембрану из экстрактов (Анг П- жидкий экстракт из сбора «Ангиофит-НМК», полученный методом перколяции, Кард П- жидкий экстракт из сбора «Кардиофит-ИБС», полученный методом перколяции, Анг МР- жидкий экстракт из сбора «Ангиофит-НМК», полученный методом модификации реперколяции, Кард МР- жидкий экстракт из сбора «Кардиофит-ИБС», полученный методом модификации реперколяции)

Как видно из результатов, представленных на рисунке, наибольшее высвобождение флавоноидов за исследуемый промежуток времени произошло из жидких экстрактов, полученных методом перколяции с использованием в качестве растворителя 40% этилового спирта.

На основании полученных фитохимических и технологических исследований, в качестве лекарственной формы выбран жидкий экстракт (1:1) на 40% этиловом спирте, полученный методом перколяции по следующей технологической схеме, представленной на рисунке 7.2.2.

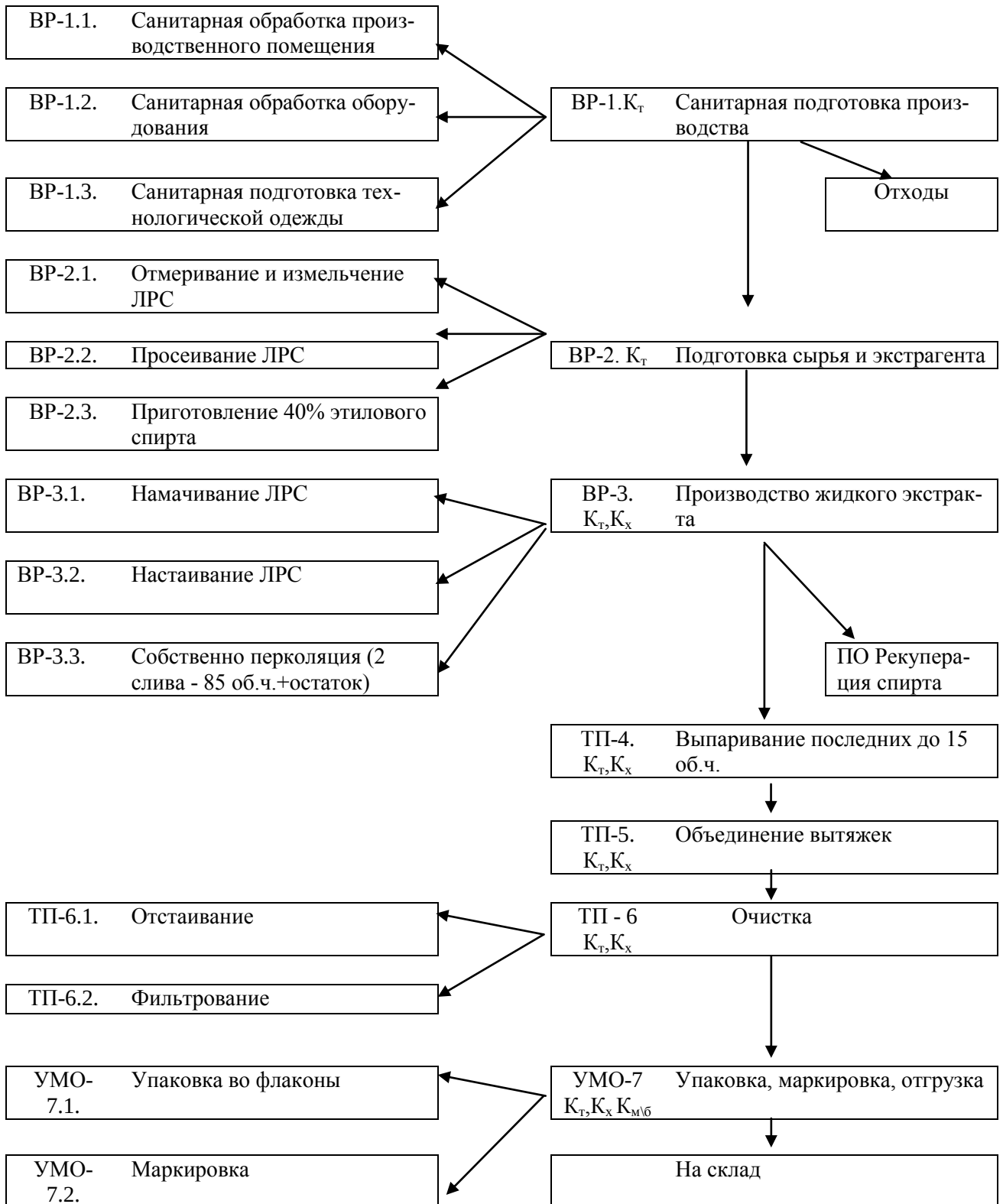


Рисунок 7.2.2. Технологическая схема получения жидких экстрактов из сборов

Исходя из требований ОФС «Экстракты», разработаны следующие показатели качества жидких экстрактов из сборов «Ангиофит-НМК» и «Кардиофит-

ИБС»: описание, подлинность, количественное содержание БАВ, плотность, содержание тяжелых металлов, pH, сухой остаток и срок годности.

В качестве реакции подлинности предложена реакция комплексообразования со спиртовым раствором алюминия хлорида. К 1 мл препарата, разведенного до 10 мл 40% этиловым спиртом, прибавляли 1 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида. Раствор приобретал желто-зеленую окраску.

Также для подтверждения подлинности экстрактов использовался метод ТСХ (глава 2, п. 2.2.3.1.).

При проведении ТСХ жидкого экстракта «Ангиофит-НМК» на линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносили 10 мкл жидкого экстракта и по 5 мкл 0,05% растворов СО рутина, СО кофейной кислоты и СО хлорогеновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами высушивали на воздухе, затем помещали в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей: этилацетат – муравьиная кислота – уксусная кислота – вода (100:11:11:13), и хроматографировали восходящим способом. Когда фронт растворителей проходил около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимали из камеры, сушили в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворителя и просматривали в УФ-свете. На хроматограмме испытуемого раствора при длине волны 365 нм обнаруживались 3 основные зоны адсорбции на уровне СО рутина бурого цвета, на уровне СО кофейной кислоты голубого цвета и на уровне СО хлорогеновой кислоты голубого цвета. Также обнаруживались дополнительные зоны.

Хроматограмму опрыскивали 5% спиртовым раствором алюминия хлорида, помещали в сушильный шкаф на 1 - 2 мин при 105°C. После проявления пятно, соответствующее СО рутина, приобретало желтую флуоресценцию, а пятна, соответствующие СО кофейной и хлорогеновой кислоты, приобретали более интенсивную окраску и флуоресценцию.

При проведении ТСХ жидкого экстракта «Кардиофит-ИБС» на линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуорес-

центным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносили 10 мкл жидкого экстракта и по 5 мкл 0,05% растворов СО рутина, СО гиперозида и СО кверцетина. Пластинку с нанесенными пробами высушивали на воздухе, затем помещали в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей: этилацетат – муравьиная кислота - вода (8:1:1), и хроматографировали восходящим способом. Когда фронт растворителей проходил около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимали из камеры, сушили в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворителя и просматривали в УФ-свете. На хроматограмме испытуемого раствора при длине волны 365 нм обнаруживались 3 основные зоны адсорбции на уровне СО рутина бурого цвета, на уровне СО гиперозида бурого цвета и на уровне СО кверцетина желтого цвета. Обнаруживались и другие дополнительные зоны.

Хроматограмму опрыскивали 5% спиртовым раствором алюминия хлорида, помещали в сушильный шкаф на 1 - 2 мин при 105°C. После проявления пятна, соответствующие СО рутина и гиперозида, приобретали желтую окраску, пятно, соответствующее СО кверцетина, приобретало желто-зеленую флюоресценцию.

Определение плотности в жидких экстрактах проводили согласно ГФ XI (вып. 1, ст. 24) с помощью пикнометра. Плотность в среднем составила: экстракта «Ангиофит-НМК» - 1,06 г/см³, экстракта «Кардиофит-ИБС» - 1,12 г/см³.

Определение сухого остатка и тяжелых металлов проводили согласно ОФС «Экстракты». Сухой остаток жидкого экстракта «Ангиофит-НМК» составил в среднем 20,16±1,25%, жидкого экстракта «Кардиофит-ИБС» - 22,32 ±1,14%, а содержание тяжелых металлов в жидких экстрактах не превышало 0,001%.

Определение pH жидких экстрактов проводили потенциометрическим методом (глава 2 п. 2.2.3.). pH жидкого экстракта «Ангиофит-НМК» составил в среднем 6,5, жидкого экстракта «Кардиофит-ИБС» - 5,4.

В качестве маркера для проведения стандартизации были выбраны флавоноиды согласно принципу «сырье-лекарственное средство» [194].

Содержание флавоноидов в жидких экстрактах проводили по методикам, разработанным для сборов. Результаты представлены в таблице 7.2.3.

Таблица 7.2.3 - Количественное содержание флавоноидов в жидких экстрактах
«Ангиофит-НМК» и «Кардиофит-ИБС», %

№ серии	Содержание флавоноидов в пересчете на рутин, %	
	Ангиофит-НМК	Кардиофит-ИБС
1.	0,66±0,02 0,66±0,02 0,65±0,03 0,65±0,03 0,66±0,03	0,32±0,01 0,31±0,01 0,33±0,01 0,32±0,01 0,31±0,01
2.	0,66±0,02 0,66±0,03 0,65±0,03 0,66±0,03 0,66±0,03	0,33±0,006 0,32±0,01 0,34±0,01 0,33±0,006 0,32±0,01
3.	0,65±0,03 0,65±0,02 0,66±0,02 0,65±0,03 0,65±0,03	0,33±0,01 0,34±0,01 0,34±0,006 0,33±0,01 0,33±0,01
4.	0,66±0,03 0,66±0,03 0,65±0,03 0,65±0,03 0,66±0,03	0,31±0,006 0,32±0,01 0,31±0,01 0,33±0,01 0,32±0,006
5.	0,66±0,03 0,66±0,03 0,66±0,03 0,66±0,03 0,66±0,03	0,31±0,01 0,31±0,006 0,32±0,01 0,32±0,01 0,31±0,01

Согласно полученным данным, количественное содержание флавоноидов в жидком экстракте «Ангиофит-НМК» в пересчете на рутин в среднем составило 0,65±0,02 %, в жидком экстракте «Кардиофит-ИБС» - 0,32±0,01%. Метрологическая характеристика количественного определения флавоноидов в жидких экстрактах «Ангиофит-НМК» и «Кардиофит-ИБС» представлена в таблице 7.2.4.

Таблица 7.2.4 - Метрологическая характеристика количественного определения флавоноидов в жидких экстрактах «Ангиофит-НМК» и «Кардиофит-ИБС»

Серии	f	x_{cp}	S^2	S_x	P	T (P,f)	Δx	E
Жидкий экстракт «Ангиофит-НМК»								
1.	4	0,65	0,00003	0,0054	95	2,57	0,014	2,09
2.	4	0,66	0,000025	0,0050	95	2,57	0,013	1,90
3.	4	0,65	0,000005	0,0022	95	2,57	0,006	0,88
4.	4	0,65	0,000031	0,0055	95	2,57	0,014	2,19
5.	4	0,66	0,000061	0,0078	95	2,57	0,02	3,06
Жидкий экстракт «Кардиофит-ИБС»								
1.	4	0,32	0,00007	0,00375	95	2,57	0,01	3,03
2.	4	0,33	0,00007	0,00375	95	2,57	0,01	3,05
3.	4	0,33	0,00003	0,00245	95	2,57	0,006	1,88
4.	4	0,32	0,00007	0,00375	95	2,57	0,01	3,03
5.	4	0,31	0,00003	0,00245	95	2,57	0,006	1,94

Сроки годности жидких экстрактов устанавливался на основании экспериментального изучения стабильности опытных партий препаратов во флаконах темного стекла по 25 мл и оптимальных условиях хранения в условиях холодильной камеры при температуре $5 \pm 3^\circ\text{C}$ (глава 2, п. 2.2.2.). Стабильность жидких экстрактов изучали путем контроля показателей качества: количественного содержания флавоноидов и органолептических свойств. Результаты исследования представлены в таблице 7.2.5.

Таблица 7.2.5 - Содержание флавоноидов в жидких экстрактах, %

Дата контроля	Серия 1, проба №1, %	Серия 1, проба №2, %	Серия 2, проба №1, %	Серия 2, проба №2, %
Жидкий экстракт «Ангиофит-НМК»				
17.04.2007	0,65 $\pm$ 0,02	0,67 $\pm$ 0,02	0,69 $\pm$ 0,03	0,68 $\pm$ 0,03
20.10.2007	0,63 $\pm$ 0,02	0,65 $\pm$ 0,03	0,66 $\pm$ 0,03	0,68 $\pm$ 0,03
23.04.2008	0,63 $\pm$ 0,03	0,64 $\pm$ 0,02	0,66 $\pm$ 0,02	0,67 $\pm$ 0,02
26.10.2008	0,62 $\pm$ 0,03	0,64 $\pm$ 0,03	0,64 $\pm$ 0,03	0,67 $\pm$ 0,03
29.04.2009	0,62 $\pm$ 0,03	0,64 $\pm$ 0,04	0,64 $\pm$ 0,03	0,65 $\pm$ 0,02
03.10.2009	0,62 $\pm$ 0,03	0,63 $\pm$ 0,03	0,63 $\pm$ 0,04	0,63 $\pm$ 0,04
05.05.2010	0,62 $\pm$ 0,04	0,62 $\pm$ 0,04	0,63 $\pm$ 0,03	0,63 $\pm$ 0,03

08.10.2010	0,61±0,04	0,62±0,04	0,62±0,04	0,61±0,04
11.05.2011	0,61±0,04	0,62±0,04	0,62±0,03	0,61±0,03
14.10.2011	0,61±0,04	0,61±0,04	0,62±0,04	0,61±0,04
13.04.2012	0,53±0,04	0,55±0,03	0,54±0,04	0,57±0,03
04.10.2012	0,52±0,03	0,55±0,03	0,54±0,03	0,56±0,03
Жидкий экстракт «Кардиофит-ИБС»				
17.04.2007	0,34±0,01	0,34±0,01	0,33±0,01	0,32±0,01
20.10.2007	0,34±0,01	0,34±0,01	0,33±0,01	0,32±0,01
23.04.2008	0,34±0,01	0,34±0,01	0,33±0,01	0,32±0,01
26.10.2008	0,34±0,01	0,34±0,01	0,32±0,01	0,31±0,01
29.04.2009	0,33±0,01	0,34±0,01	0,32±0,01	0,31±0,01
03.10.2009	0,33±0,01	0,34±0,01	0,31±0,01	0,31±0,01
05.05.2010	0,33±0,01	0,33±0,01	0,31±0,01	0,31±0,01
08.10.2010	0,32±0,01	0,33±0,01	0,31±0,01	0,31±0,01
11.05.2011	0,32±0,01	0,33±0,01	0,30±0,01	0,31±0,01
14.10.2011	0,31±0,01	0,31±0,01	0,30±0,01	0,31±0,01
13.04.2012	0,23±0,01	0,25±0,01	0,28±0,01	0,24±0,01
04.10.2012	0,22±0,01	0,23±0,01	0,23±0,01	0,23±0,01

Согласно полученным данным, установлен срок годности жидких экстрактов - 4 года. На основании проведенных исследований предлагаются следующие показатели качества жидких экстрактов из сбора «Ангиофит-НМК» и «Кардиофит-ИБС», включенные в проекты ФСП (Приложение 4 и 5).

Таким образом, на основании проведенных технологических и фитохимических исследований разработаны препараты на основе сбора «Ангиофит-НМК» и «Кардиофит-ИБС» - жидкие экстракты (1:1), полученные методом перколяции на 40 % этиловом спирте [248].

7.3. Разработка густого экстракта из листьев боярышника кроваво-красного

В основе производства полиэкстрактов (полифракционных экстрактов) лежит представление, что обычно галеновые препараты не могут содержать все биологически активные вещества лекарственного растения, поскольку один экстрагент не способен извлечь весь комплекс биологически активных веществ. Если же растительное сырье последовательно обрабатывать разными экстрагентами, то объединенные фракции будут содержать комплекс соединений, близкий химическому составу растения в целом. Далее можно увеличивать в смеси количество наиболее активных фракций, создавая тем самым более эффективные лекарственные средства [261, 279].

Нами изучена возможность получения густого полиэкстракта из листьев боярышника кроваво-красного. Для выявления оптимальных условий экстракции использовалась методика ГФ XI, ст. «Определение содержания экстрактивных веществ» и определялись лучшие по экстрактивным возможностям экстрагенты и соотношение фаз. Температурный режим экстракции (водяная баня, электроподогрев) определялся видом экстрагента. Результаты исследования представлены на рисунке 7.3.1.

Из результатов, представленных на рисунке видно, что максимальная экстракция БАВ достигается при использовании в качестве экстрагента - спирта этилового 40%. Высокий выход экстрактивных веществ наблюдается при использовании воды очищенной и спирта этилового 40% и 95% в соотношении 1:12, спирта этилового 80% - 1:16, спирта этилового 70% - 1:14.

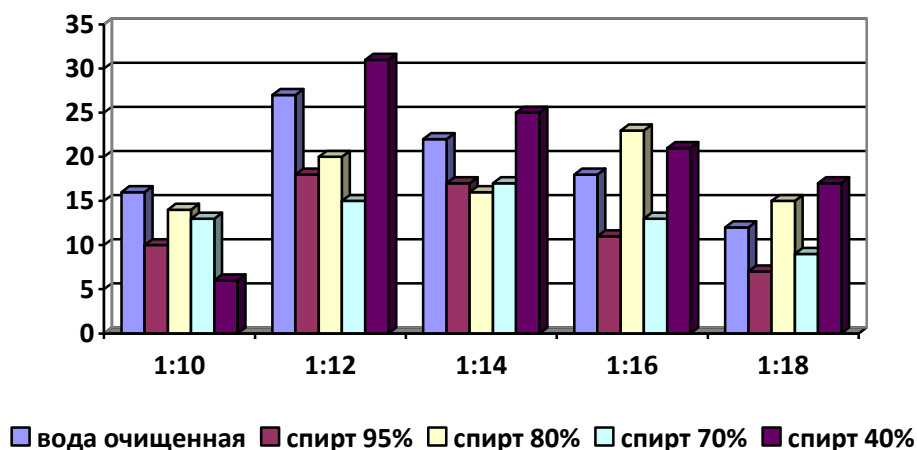


Рисунок 7.3.1. Выход экстрактивных веществ (%) в зависимости от экстрагента и соотношения «сырье - растворитель»

Для получения полиэкстракта с максимальным выходом действующих веществ, в качестве экстрагентов нами выбраны вода очищенная (1:12) и спирт этиловый: 40% (1:12), 80% (1:16) для последовательной экстракции сырья методом дробной мацерации.

Экспериментально разработана технологическая схема получения густого полиэкстракта из листьев боярышника кроваво-красного, представленная на рисунке 7.3.2.

Выход конечного продукта в среднем составил $47,1 \pm 2,2\%$. Полученный густой экстракт (полиэкстракт) представляет собой вязкую жидкость темно-коричневого цвета, со специфическим пряным запахом и сладковато-горьковатым вкусом.

Исходя из требований ОФС «Экстракты», разработаны следующие показатели качества лекарственной формы: описание, подлинность, количественное содержание БАВ, содержание тяжелых металлов, pH, влажность и срок годности.

В качестве реакции подлинности нами предлагается реакция комплексообразования со спиртовым раствором алюминия хлорида. К 1 мл препарата, разведенному до 10 мл 80% этиловым спиртом, прибавляли 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида. Раствор приобретал желто-зеленую окраску.

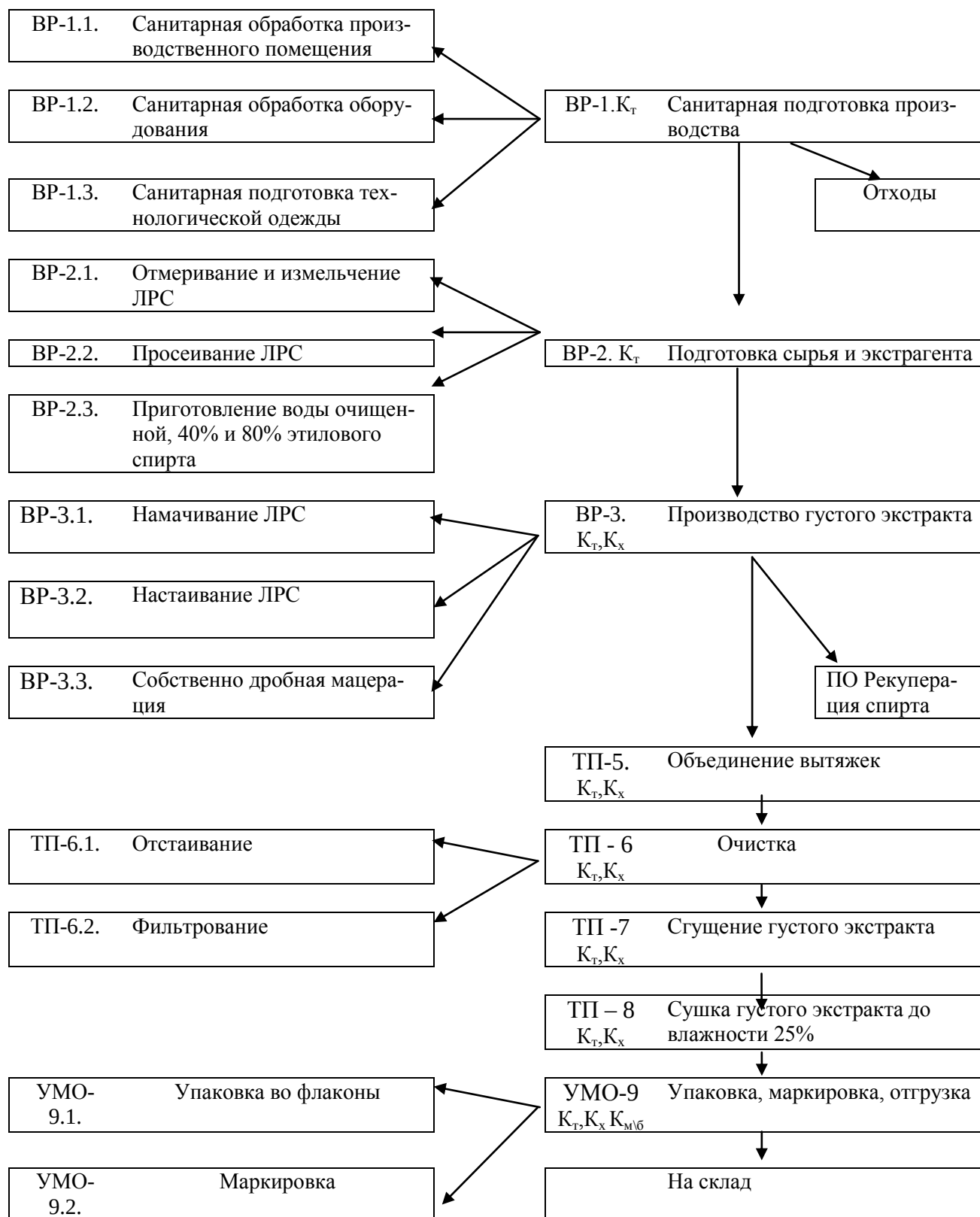


Рисунок 7.3.2. Технологическая схема получения густого экстракта (полиэкстракта) из листьев боярышника кроваво-красного

Определение тяжелых металлов проводили согласно ОФС «Экстракты». Содержание тяжелых металлов в густом экстракте не превышает 0,001%.

В качестве маркера для проведения стандартизации выбраны флавоноиды согласно принципу «сырье-лекарственное средство» [194]. Результаты исследования представлены в таблице 7.3.1.

Таблица 7.3.1 - Количественное содержание флавоноидов в густом экстракте, %

№ серии	Дата контроля	Содержание флавоноидов в пересчете на рутин, %
1.	16.02.12	6,28±0,21 6,29±0,23 6,26±0,29 6,27±0,29 6,30±0,32
2.	21.11.13	6,30±0,22 6,31±0,28 6,28±0,31 6,29±0,29 6,22±0,30
3.	09.02.13	6,18±0,26 6,19±0,22 6,15±0,22 6,17±0,25 6,21±0,26
4.	14.12.13	6,25±0,30 6,26±0,30 6,23±0,33 6,24±0,27 6,27±0,31
5.	25.06.14	6,27±0,32 6,28±0,31 6,25±0,27 6,26±0,29 6,29±0,29

Из результатов, представленных в таблице 7.3.1, видно, что количественное содержание флавоноидов в густом экстракте в пересчете на рутин в среднем составило 6,25±0,28%. Метрологическая характеристика количественного определения флавоноидов в густом экстракте представлена в таблице 7.3.2.

Таблица 7.3.2 - Метрологическая характеристика количественного определения флавоноидов в густом экстракте

Серия	f	$x_{\text{ср}}$	S^2	S_x	P	T (P,f)	Δx	E
1.	4	6,28	0,01088	0,1043	95	2,57	0,268	4,27
2.	4	6,28	0,01185	0,1089	95	2,57	0,280	4,46
3.	4	6,18	0,00887	0,0942	95	2,57	0,242	3,92
4.	4	6,25	0,01381	0,1175	95	2,57	0,302	4,83
5.	4	6,27	0,01327	0,1152	95	2,57	0,296	4,72

Срок годности густого экстракта устанавливали на основании экспериментального изучения стабильности опытных партий препарата во флаконах темного стекла емкостью 50 мл с натягивающейся крышкой и оптимальных условиях хранения в условиях холодильной камеры при температуре $5 \pm 3^\circ\text{C}$ (глава 2, п. 2.2.2.). Стабильность густого экстракта изучали путем контроля показателей качества: количественного содержания флавоноидов и органолептических свойств. Результаты исследования представлены в таблице 7.3.3.

Таблица 7.3.3 - Содержание флавоноидов в густом экстракте, %

Дата контроля	Серия 1, проба №1, %	Серия 1, проба №2, %	Серия 2, проба №1, %	Серия 2, проба №2, %
17.04.2010	6,80 $\pm$ 0,21	6,80 $\pm$ 0,23	6,54 $\pm$ 0,29	6,83 $\pm$ 0,35
20.10.2010	6,50 $\pm$ 0,22	6,70 $\pm$ 0,28	6,52 $\pm$ 0,31	6,81 $\pm$ 0,35
23.04.2011	6,40 $\pm$ 0,26	6,60 $\pm$ 0,22	6,41 $\pm$ 0,22	6,78 $\pm$ 0,27
26.10.2011	6,40 $\pm$ 0,30	6,60 $\pm$ 0,30	6,33 $\pm$ 0,33	6,56 $\pm$ 0,35
29.04.2012	6,20 $\pm$ 0,28	6,20 $\pm$ 0,37	6,30 $\pm$ 0,38	6,31 $\pm$ 0,27
03.10.2012	6,10 $\pm$ 0,31	6,20 $\pm$ 0,29	6,16 $\pm$ 0,31	6,21 $\pm$ 0,21
05.05.2013	6,10 $\pm$ 0,32	6,10 $\pm$ 0,31	6,13 $\pm$ 0,37	6,16 $\pm$ 0,35
08.10.2013	6,10 $\pm$ 0,31	6,10 $\pm$ 0,37	6,12 $\pm$ 0,36	6,11 $\pm$ 0,22
11.05.2014	5,70 $\pm$ 0,22	5,21 $\pm$ 0,21	5,64 $\pm$ 0,37	5,25 $\pm$ 0,35
14.10.2014	5,67 $\pm$ 0,32	5,15 $\pm$ 0,37	5,62 $\pm$ 0,26	5,17 $\pm$ 0,32
13.04.2015	5,30 $\pm$ 0,38	4,90 $\pm$ 0,30	5,59 $\pm$ 0,41	5,07 $\pm$ 0,37

Согласно полученным данным, экспериментальный срок хранения составил 3 года. На основании проведенных исследований предлагаются следующие показатели качества густого экстракта их листьев боярышника кроваво-красного для

включения в проект ФС (Приложение 6). Результаты представлены в таблице 7.3.4.

Таблица 7.3.4 - Показатели качества густого экстракта

№	Показатель	Определение
1.	Описание	Вязкая жидкость темно-коричневого цвета, со специфическим пряным запахом и сладковато-горьковатым вкусом
2.	Подлинность	1. 1 мл препарата разводят до 10 мл спиртом этиловым 80 % и прибавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида, появляется желто-зеленое окрашивание.
3.	Содержание флавоноидов, %	Не менее 5,8
4.	pH	6,3
5.	Содержание тяжелых металлов, %	Не более 0,001
6.	Влажность, %	Не более 25
7.	Срок годности	3 года

На основании проведенных технологических и фитохимических исследований разработана субстанция на основе листьев боярышника кроваво-красного - густой экстракт, полученный методом дробной мацерации с использованием в качестве экстрагентов воды очищенной (1:12), спирта этилового 40% (1:12) и 80% (1:16).

На основе густых экстрактов возможно приготовление различных лекарственных форм для внутреннего и наружного применения, что значительно расширит ассортимент комплексных фитопрепаратов. В последнее время на фармацевтическом рынке появились лекарственные препараты и БАДы в виде кондитерских лекарственных форм: карамелей, пастилок, жевательных резинок и мармелада [181, 265].

Нами рассмотрена возможность использования густого экстракта из листьев боярышника кроваво-красного в качестве субстанции для разработки состава и технологии сублингвальных пастилок.

Для выбора оптимального состава исследовались несколько экспериментальных составов пастилок и их технологические свойства. Результаты исследования представлены в таблице 7.3.5.

**Таблица 7.3.5 - Составы и технологические свойства пастилок
с густым экстрактом**

№ п/п	Составы Компоненты	Состав 1	Состав 2	Состав 3	Состав 4	Состав 5
1.	Желатин	10.0	10.0	10.0	10.0	5.0
2.	Камедь Абрикосовая	15.0	10.0	7.5	7.5	5.0
3.	Сорбит	40.0	30.0	20.0	15.0	40.0
4.	Густой экстракт	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
5.	Вода очищенная	До 100.0	До 100.0	До 100.0	До 100.0	До 100.0
Технологические свойства пастилок						
1.	Заполнение па- стильной массы в форму*	+++	+++	++	++	+
2.	Консистенция	Плотная	средней плотности	средней плотности	средней плотности	средней плотности
3.	Адгезивные свой- ства	удовлетво- рительные	удовлетво- рительные	удовлетво- рительные	удовлетво- рительные	не удовле- творитель- ные
4.	Растворимость	не раство- рима, только набухает	распадает- ся на ку- сочки и частично набухает	3.15 с	3.25с	3.17с

* Заполнение пастильной массы в форму (+ - не выливаются в форму (очень вязкая консистенция); ++ - выливаются с трудом; +++ - легко выливаются).

Из результатов, представленных в таблице, видно, что оптимальными технологическими свойствами обладает состав 4, который и был отобран для дальнейших исследований. Выявлено, что на технологические свойства оказывает влияние количество камеди, желатина и сорбита. При увеличении сорбита и камеди плотность пастильной массы возрастает, и она плохо выливается в формы.

Увеличение концентрации желатина приводит к улучшению эластичности пастильной массы.

Первоначально пастильную массу готовили с учетом технологических свойств ее компонентов: 10, 0 г желатина смешивали с 75 мл воды для набухания с последующим растворением на водяной бане, а в оставшемся количестве воды (25 мл) растворяли 15, 0 г сорбита и 7,5 г камеди. Но при этом возникли технологические сложности, связанные с камедью, которая образовывала плотную густую массу, не поддающуюся формованию. Для преодоления этого затруднения, была отработана другая технологическая схема получения пастильной массы. В 100 мл воды растворяли 1, 0 г экстракта и в полученном растворе готовили гель с 10, 0 г желатина, который вводили к полуостывшему сплаву 15, 0 г сорбита с 7,5 г камеди, все тщательно перемешивали и быстро выливали в формы. Из форм после охлаждения в холодильной камере через 24 часа при помощи шпателя вынимали пастилки. На основании проведенных исследований предлагается следующая схема получения сублингвальных пастилок на основе густого экстракта листьев боярышника кроваво-красного, приведенная на рисунке 7.3.3.

На разработанные сублингвальные пастилки на основе густого экстракта листьев боярышника кроваво-красного получен патент «Способ местного лечения и профилактики основных стоматологических заболеваний у лиц пожилого и старческого возраста с применением жевательного субстрата» (Приложение - Патент № 2521373).



Рисунок 7.3.3. Схема получения сублингвальных пастилок

Выводы к главе 7

1. Проведены фитохимические исследования водных извлечений из сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК».
2. Предложена оптимальная технология получения жидких экстрактов из сборов «Ангиофит-НМК» и «Кардиофит-ИБС» методом перколяции с использованием 40% этилового спирта, разработаны показатели качества (подлинность, сухой остаток, рН, содержание тяжелых металлов, содержание флавоноидов) и установлены сроки годности – 4 года.
3. Разработана схема получения густого экстракта (полиэкстракта) из листьев боярышника кроваво-красного методом дробной мацерации с использованием воды очищенной, спирта этилового 40% и 80%, разработаны его показатели качества и установлены сроки годности – 3 года.
4. Разработаны проекты ФСП на жидкие экстракты сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» и густой экстракт из листьев боярышника кроваво-красного.
5. Разработаны состав и технология получения сублингвальных пастилок на основе густого экстракта из листьев боярышника кроваво-красного и ВМС.

Острая токсичность сборов и листьев боярышника кроваво-красного изучалась на 72 белых мышах обоего пола весом 18-20 г при введении внутрь в дозах 5000, 7500 и 10000 мг/кг в пересчете на сухой вес сырья (глава 2, п. 2.2.4). Сырье вводили в виде 10% настоя. Наблюдение вели в течение 14 дней. При введении исследуемых доз настоя листьев боярышника не было отмечено никаких признаков интоксикации, все животные были живы, подвижны, аппетит хороший. При введении внутрь настоя из сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» наблюдалось отравление одной мыши из шести лишь в дозе 10000 мг/кг. Результаты опытов представлены в таблице 8.1.1.

Дальнейшее увеличение дозы было невозможным из-за большого объема вводимого 10% настоя. Поэтому вычислить LD₅₀ сборов при введении внутрь не удалось. Дальнейшие токсикологические исследования при введении внутрь не проводились из-за явной нетоксичности сырья.

Доза, мг/кг	Путь введения	Наблюд. эффект	Наблюд. эффект, %	Ожид. эффект, %	Разница	Слагаемое для X 2
Контроль						
5000	Внутрь	0/6	0	-	-	-
7500	Внутрь	0/6	0	-	-	-
10000	внутри	0/6	0	-	-	-
Сбор «Кардиофит-ИБС»						
5000	Внутрь	0/6	0	-	-	-
7500	Внутрь	0/6	0	-	-	-
10000	внутри	1/6	16,6	-	-	-
Сбор «Ангиофит-НМК»						

5000	Внутрь	0/6	0	-	-	-
7500	Внутрь	0/6	0	-	-	-
10000	внутрь	1/6	16,6	-	-	-
Листья боярышника кроваво-красного						
5000	Внутрь	0/6	0	-	-	-
7500	Внутрь	0/6	0	-	-	-
10000	внутрь	0/6	0	-	-	-

По классификации ГОСТ 12.1.007.76 исследуемые объекты были отнесены к классу малотоксичных соединений, что позволяет судить об их безопасности, и дает возможность для дальнейших исследований [52].

8.2. Сравнительное изучение антиоксидантной активности сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного

Для исследования антиоксидантных свойств изучаемых объектов использовали три методики: *методика 1* - спектрофотометрическая, *методика 2* - метод хемилюминесценции, *методика 3* - экспресс-метод на культуре клеток (глава 2, п.2.2.4.)

Сравнительную антиоксидантную активность водных извлечений сборов и листьев боярышника кроваво-красного, спектрофотометрическим методом оценивали по их способности ингибировать аутоокисление адреналина (*in vitro*) и тем самым предотвращать образование активных форм кислорода (*методика 1*, глава 2, п.2.2.4). Антиоксидантной активностью, согласно данной методике, обладают вещества, показатель которых больше 10%. Результаты, представленные на рисунке 8.2.1. показывают, что наибольшей антиоксидантной активностью обладает жидкий экстракт из сбора «Ангиофит-НМК» ($79 \pm 4,5\%$) и сбор «Ангиофит-НМК» ($77 \pm 3,7\%$), что сопоставимо с препаратом сравнения - аскорбиновой кислоты ($79 \pm 3,9\%$). Антиоксидантная активность сбора «Кардиофит-ИБС» составила

$67 \pm 3,2$ %, жидкого экстракта на его основе - $70 \pm 2,6$ %, листьев боярышника кроваво-красного - $57 \pm 3,1$ % и густого экстракта на его основе - $65 \pm 3,1$ %.

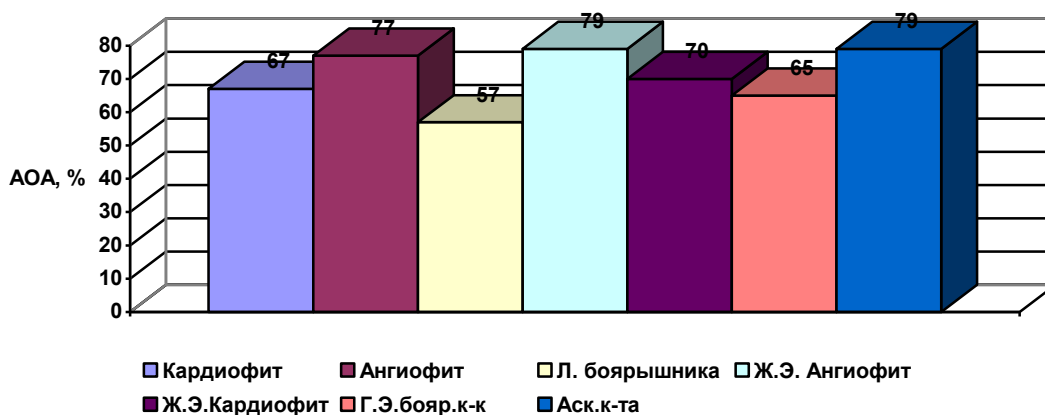


Рисунок 8.2.1. Сравнительная антиоксидантная активность настоев и лекарственных форм исследуемых объектов спектрофотометрическим методом

Антиоксидантная активность определена также *in vitro* методом хемилюминесценции, основанном на регистрации свечения, появляющегося в результате реакции окисления солей железа в модельных системах (методика 2, глава 2, п.2.2.4.). Для анализа использовались настои, приготовленные по фармакопейной методике. В качестве препарата сравнения использовали 5% водный раствор аскорбиновой кислоты - известного антиоксиданта.

Водные извлечения (от 0,001г/мл до 0,05 г/мл) вносили в модельные системы, в которых генерировалось образование активных форм кислорода (АФК) и протекали реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ), являющиеся наиболее распространенными процессами свободно-радикального окисления. Полученные данные представлены в таблице 8.2.1.

Таблица 8.2.1 - Влияние исследуемых объектов на хемилюминесценцию
в различных модельных системах

	Конц-я, г/мл	Модель АФК		Модель ПОЛ	
		Светосумма свечения	% сниже- ния кон- троля	Светосумма свечения	% сниже- ния кон- троля
Контроль		127,33±6,54	100	33,62±2,43	100
Сбор «Кардиофит- ИБС»	0,001	86,8±1,76	31,8*	20,79±0,69	38,2*
	0,005	55,33±2,7	56,6*	21,13±1,57	37,2*
	0,01	9,6±0,2	92,5*	3,03±0,32	91,0*
	0,05	6,2±0,1	95,1*	2,2±0,1	93,5*
Сбор «Ангиофит- НМК»	0,001	110,9±5,76	12,9	24,06±1,65	28,4*
	0,005	71,33±3,61	44,0*	7,46±0,76	77,8*
	0,01	12,83±0,77	89,9*	1,15±0,6	96,6*
	0,05	10,11±0,6	92,1*	1,29±0,7	96,2*
Листья бо- ярышника к-к	0,001	75,5±4,67	40,7*	5,66±0,29	83,2*
	0,005	32,17±1,65	74,7*	4,12±0,24	87,6*
	0,01	3,23±0,07	97,5*	0,36±0,01	98,9*
	0,05	1,3±0,03	98,9*	0,32±0,01	99,1*
Аскорбиновая кислота (препарат сравнения)	0,001	106,1±5,41	16,7*	31,43±1,89	6,5
	0,005	63,57±4,23	50,1*	13,37±0,67	60,2*
	0,01	15,2±0,87	88,1*	3,59±0,18	89,3*
	0,05	11,9±6,54	90,7*	2,6±0,65	92,3*

* - $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

Из результатов, представленных в таблице, видно, что сбор «Кардиофит-ИБС» снижал образование активных форм кислорода (светосумму свечения) в дозах от 0,001 до 0,05 г/мл от 31% до 95%, сбор «Ангиофит-НМК» от - 12% до 92%, листья боярышника кроваво-красного - от 40% до 99%, препарат сравнения в тех же дозах от 16% до 90%. Исследуемые объекты влияли и на скорость ПОЛ, снижая ее в среднем: сбор «Кардиофит-ИБС» - от 38% до 93%, сбор «Ангиофит-НМК» - от 24% до 96%, листья боярышника кроваво-красного - от 83% до 99 % (препарат сравнения от 6% до 92%) в зависимости от дозы. Анализируя полученные данные можно отметить, что из исследуемых объектов лучше всех снижают

образование АФК и уменьшают скорость ПОЛ листа боярышника кроваво-красного. Здесь необходимо также отметить, что данное влияние у листьев боярышника кроваво-красного наблюдается уже в дозе 0,001 г/мл, в отличие от сборов и препарата сравнения, у которых данное влияние наблюдается, только начиная с дозы 0,005 г/мл [163, 243].

Согласно третьей методике антиоксидантную активность исследуемых объектов определяли, используя экспресс-метод на культуре клеток (*методика 3*, глава 2, п. 2.2.4). Результаты исследования представлены в таблице 8.2.2.

Таблица 8.2.2 - Оценка антиоксидантной активности с использованием экспресс-метода на культуре клеток

Объект исследования	Лизирующая концентрация клеточных ядов, %		Время остановки движения парameций, мин		Оценка Активности
	перекиси водорода	этилового спирта	в 3% перекиси водорода	в 14% этиловом спирте	
Сбор «Ангиофит-НМК»	3±0,12	21±0,9	5,4±0,11	3,2±0,23	Умеренно Активный
Сбор «Кардиофит-ИБС»	6±0,12	21±0,8	4,2±0,14	6,8±0,4	Умеренно Активный
Листья боярышника	7±0,11	21±0,6	5,6±0,1	7,8±0,5	Умеренно Активный

Согласно полученным данным, оказалось, что все исследуемые объекты обладают мембраностабилизирующей и антиоксидантной активностью и по шкале биологической активности методики относятся к умеренно активным веществам. При проведении сравнительного анализа мембраностабилизирующей активности по влиянию на лизис и движение парameций в этиловом спирте и перекиси водорода различной концентрации исследуемых объектов, оказалось, что наибольшей активностью обладают листья боярышника кроваво-красного, потом - сбор «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» [249].

8.3. Определение биологических свойств сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного

Определение антиаритмической активности листьев боярышника кроваво-красного

Антиаритмическую активность листьев боярышника кроваво-красного исследовали на двух моделях аритмий: хлоридкальциевой и аконитиновой - на белых беспородных крысах массой 160-200 г (глава 2, п. 2.2.4). Настой из листьев боярышника кроваво-красного готовили по общепринятой методике ГФ XI [56]. В качестве препарата сравнения использовали настойку плодов боярышника.

На хлоридкальциевой модели аритмии у животных контрольной группы после внутривенного введения CaCl_2 (250 мг/кг 10% раствора) регистрировали желудочковую экстрасистолию, резкую брадикардию, доходящую до асистолии - временной остановки сердца, и фибрилляцию желудочков, имевшую на ЭКГ вид затухающей синусоиды. Нарушения ритма в контроле сопровождались гибелью всех животных в течение первых 3 минут после введения аритмогена.

У животных, принимавших настой листьев боярышника, нарушения ритма были кратковременными и менее тяжелыми - в виде одиночных экстрасистол и коротких периодов фибрилляции желудочков. Число случаев асистолии уменьшилось на 50%. Выживаемость в этой группе с последующим восстановлением синусового ритма составила 40%.

Курсовой прием настойки плодов боярышника у 80% животных не влиял на течение и исход хлоридкальциевой аритмии, т. е. не предупреждал возникновение желудочковых нарушений ритма и, как следствие, гибель животных.

Средняя продолжительность жизни погибших крыс от хлоридкальциевой интоксикации, получавших настой листьев боярышника, составила $17,33 \pm 2,4$ мин против $1,26 \pm 0,18$ мин в контроле и $8,2 \pm 0,8$ мин в группе, получавшей препарат сравнения (таблица 8.3.1).

На аконитиновой модели аритмии после внутривенного введения аконитина в дозе 50 мкг/кг у животных развивались смешанные формы нарушений сердечного ритма предсердно-желудочкового типа длительностью более 1,5 часа.

В обеих группах (получавших настойку плодов и настой листьев боярышника) абсолютного антиаритмического эффекта (полного предотвращения возникновения аритмии) в сравнении с контролем не наблюдалось. Однако в обеих группах мы наблюдали достоверное увеличение латентного времени возникновения аритмии в среднем в 2 раза. При приеме настоя листьев боярышника латентное время возникновения аритмии увеличилось в 2,5 раза, что по сравнению с контролем было в 1,5 раза выше, чем при приеме настойки плодов боярышника (таблица 8.3.2).

Профилактический прием настоя листьев боярышника значительно облегчал течение аконитиновой аритмии, что выражалось в уменьшении возникновения желудочковой тахикардии и снижении частоты экстрасистол у всех животных. Восстановление сердечного ритма в этой группе наблюдалось в среднем через $68,1 \pm 4,2$ мин, что в 1,8 раза быстрее, чем в контроле ($120,6 \pm 1,02$ мин) и в 1,5 раза - чем в группе, принимавшей препарат сравнения $100 \pm 8,4$ мин ($P \leq 0,001$).

Таблица 8.3.1 - Противоаритмическая активность настоя листьев и спиртовой настойки плодов *Crataegus sanguinea* Pall.
на хлоридкальциевой модели аритмий при пероральном профилактическом введении (14 дней)

Группы	Асистолия, %	Фибрилляция, %	Экстрасистолия, %	Выживаемость, %	Продолжительность жизни животного, мин
Контроль	83,3	100	66,6	0	1,26±0,18
Препарат сравнения (настойка плодов боярышника)	66,6	83,3	50	16,6	8,2 ±0,8*
Настой листьев боярышника	50	66,6	33,3	40	17,33 ±2,4*,**

* - Различия статистически достоверны, в сравнении с контролем ($p < 0,05$).

** - Различия статистически достоверны, в сравнении с настойкой ($p < 0,05$).

Таблица 8.3.2 - Противоаритмическая активность настоя листьев и спиртовой настойки плодов *Crataegus sanguinea* Pall. на аконитиновой модели аритмий при пероральном профилактическом введении (14 дней)

Группы	Абсолютный антиаритмический эффект, %	Частичный антиаритмический эффект, %	Отсутствие антиаритмического эффекта, %	Латентный период возникновения аритмии, мин	Продолжительность аритмии, мин
Контроль	0	0	100	$1,5 \pm 0,09$	$120,6 \pm 1,02$
Препарат сравнения (настойка плодов боярышника)	0	20	80	$2,1 \pm 0,09^*$	$100,0 \pm 8,4^*$
Настой листьев боярышника	0	100	0	$3,0 \pm 0,07^{*,**}$	$68,1 \pm 4,2^{*,**}$

* - Различия статистически достоверны, в сравнении с контролем ($p < 0,05$).

** - Различия статистически достоверны, в сравнении с настойкой ($p < 0,05$).

Абсолютный антиаритмический эффект - полное восстановление синусового ритма за период действия аконитина.

Частичный антиаритмический эффект - подавления частоты эктопических сокращений на 50 %, удлинение времени возникновения аритмии и укорочение длительности аритмии.

Отсутствие антиаритмического эффекта - развитие типичной аконитиновой аритмии.

В аналогичных условиях опыта настойка плодов боярышника только в 20% случаев предупреждала возникновение желудочковой тахикардии. Не влияя на частоту возникновения экстрасистолии, настойка вызывала некоторое снижение эктопической активности (желудочковая и предсердная экстрасистолия) сердца на ЭКГ, однако у 80% животных это не привело к полному восстановлению нормального синусового сердечного ритма в течение 2 часов наблюдения [220].

Определение кардиопротективной активности

Кардиопротективную активность исследовали у листьев боярышника кроваво-красного и сбора «Кардиофит-ИБС» на белых крысах-самцах линии Вистар после профилактического приема и экспериментальном адреналин-гипоксическом повреждении миокарда (глава 2, п.2.2.4.).

Профилактическое введение в течение 14 дней настоя листьев боярышника изменяло исходные показатели электрокардиограмм опытной группы животных следующим образом. Наблюдалось укорочение интервалов QT и TP, которое не было достоверным. Достоверно уменьшалась длительность зубца QRS, что свидетельствовало об улучшении проводимости возбуждения по желудочкам. Наблюдалось повышение зубцов R и T (улучшение химических восстановительных процессов, происходящих в мускулатуре желудочков), углубление зубца S. При этом сердечный ритм замедлялся с 358 до 324 ударов в минуту (таблица 8.3.3).

При профилактическом введении настоя сбора «Кардиофит-ИБС» наблюдалось укорочение интервала QT. Уменьшалась длительность зубца QRS, что свидетельствует об улучшении проводимости возбуждения по желудочкам. Наблюдалось повышение зубцов R и T (улучшение химических восстановительных процессов, происходящих в мускулатуре желудочков), углубление зубца S. При этом сердечный ритм замедлялся с 358 до 313 ударов в минуту (таблица 8.3.3.).

Таблица 8.3.3 - Влияние растительных средств на показатели электрокардиограммы при профилактическом приеме

№	Группа	ЧСС в мин	QT, с	TP, с	QRS, с	R, мВ	S, мВ	T, мВ
1.	Контроль	358,0	0,053	0,084	0,021	3,0	1,52	1,14
2.	Листья боярышника кроваво-красного	324,2*	0,049	0,073	0,019*	5,26	1,76*	2,44*
3.	Кардиофит-ИБС	313,7*	0,044	0,084	0,018*	5,8*	2,82*	1,91*

* - различия статистически достоверны в сравнении с контролем ($p \leq 0,05$)

После экспериментального адреналин-гипоксического повреждения миокарда в контрольной группе животных наблюдались изменения исходных показателей электрокардиограммы в виде брадисистолии и мерцательной аритмии. Ритм сердца замедлился с 358 до 293 ударов в минуту, причем интервалы R-R были разные по продолжительности (таблица 8.3.4). Во II стандартном отведении длительность интервалов составила: QT - 0,084 с (увеличился почти в 1, 6 раз), TP - 0,68 с (уменьшился на 19%), QRS - 0,019 с (уменьшился на 10%). Вольтаж зубцов составил R - 2,89 мВ (уменьшился на 4%, что характеризует нарушение процесса деполяризации желудочков вследствие выключения части миокарда из процессов возбуждения), T - 1,5 мВ (увеличился на 31%), S - 1,76 мВ (увеличился на 16%). Это связано с тем, что введение адреналина крысам приводит к гиперполяризации мембран, увеличению сократительной активности, увеличению содержания внутриклеточного кальция контрактурам миофибрилл, разобщению окислительного фосфорилирования. Перечисленные выше процессы представляют собой одну из форм метаболического и гипоксического стрессов, которые, как известно, приводят к конформационным изменениям внутриклеточного белка [180].

Таблица 8.3.4 - Влияние растительных средств на показатели электрокардиограммы при адреналин-гипоксическом повреждении миокарда

№	Группа	ЧСС в мин	QT, с	TP, с	QRS, с	R, мВ	S, мВ	T, мВ
1.	Контроль	292,3	0,084	0,068	0,019	2,89	1,76	1,5
2.	Листья боярышника кроваво-красного	291,6	0,108	0,043	0,024*	8,39*	2,76	3,39*
3.	Кардиофит-ИБС	306,7*	0,098	0,057	0,02	7,42*	2,0	1,67

* - различия статистически достоверны в сравнении с контролем ($p \leq 0,05$)

У опытной группы животных на фоне приема настоя листьев боярышника не наблюдалось изменение частоты сердечных сокращений в среднем, но интервалы R-R были одинаковыми по продолжительности, и наблюдалось снижение частоты возникновений мерцательной аритмии. Отмечалось также значительное повышение зубцов R и T, углубление зубца S (таблица 8.3.4).

У группы животных на фоне приема настоя сбора «Кардиофит-ИБС» после адреналин-гипоксического поражения миокарда наблюдалось ускорение частоты сердечных сокращений до 14 ударов в минуту (с 292 до 306), т.е. брадисистолия уменьшалась, и происходило снижение признаков мерцательной аритмии. Отмечалось значительное повышение зубцов R и T (таблица 8.3.4).

Таким образом, листья боярышника кроваво-красного и сбор «Кардиофит-ИБС» усиливали биоэлектрическую активность сердца, что выражалось в повышении вольтажа зубцов электрокардиограммы, укорочении систолы, снижении или нормализации частоты сердечных сокращений. Это свидетельствует о наличии в исследуемых объектах кардиопротективного действия [239, 241].

Исследование антиагрегантной активности

О влиянии сборов на агрегацию тромбоцитов судили по изменению динамики процесса агрегации тромбоцитов по модифицированному методу Борна (глава 2, п. 2.2.4.). Процесс агрегации, индуцируемый добавлением к богатой тромбоцитами исследуемой плазме стандартного количества агониста агрегации тромбоцитов, регистрировали фотометрически по падению оптической плотности.

Количество тромбоцитов определяли автоматически анализатором агрегации тромбоцитов АГ-02. Результаты представлены в таблице 8.3.5.

Таблица 8.3.5 - Влияние сборов на агрегацию тромбоцитов, вызываемую АДФ, коллагеном и адреналином (n=6)

Группа	Реагент	Параметры 1-й волны агрегации	
		Скорость на 30-й секунде (%/мин)	Макс. амплитуда 1 (%)
Контроль	АДФ 1×10^{-6} М	$49,2 \pm 3,2$	$36,2 \pm 2,9$
АСК 3×10^{-5} г/мл		$39,1 \pm 3,3$	$29,8 \pm 1,9$
% снижения от контроля		$P < 0,05$	$P > 0,05$
		$20,5 \pm 2,1$	$17,7 \pm 1,5$
Сбор «Кардиофит-ИБС»		$38,8 \pm 2,3$	$30,3 \pm 2,1$
% снижения от контроля		$P < 0,05$	$P > 0,05$
Сбор «Ангиофит-НМК»		$21,1 \pm 1,9$	$16,4 \pm 1,5$
% снижения от контроля		$P < 0,02$	$P < 0,02$
	Коллаген $2,5 \times 10^{-5}$ М	$26,4 \pm 2,8$	$27,9 \pm 2,6$
Контроль		$7,8 \pm 0,3$	$5,9 \pm 0,6$
Сбор «Кардиофит-ИБС»		$7,0 \pm 0,8$	$5,5 \pm 0,3$
% снижения от контроля		$P > 0,05$	$P > 0,05$
Сбор «Ангиофит-НМК»		$10,3 \pm 1,0$	$6,8 \pm 0,5$
% снижения от контроля		$P < 0,01$	$P < 0,01$
		$5,6 \pm 0,4$	$3,8 \pm 0,2$
		$28,2 \pm 2,2$	$35,6 \pm 2,8$
Контроль	Адреналин $2,5 \times 10^{-6}$ М	$12,3 \pm 1,8$	$10,0 \pm 1,2$
Сбор «Кардиофит-ИБС»		$7,4 \pm 0,7$	$5,6 \pm 0,4$
% снижения от контроля		$P < 0,05$	$P < 0,01$
Сбор «Ангиофит-НМК»		$39,8 \pm 3,3$	$44,0 \pm 3,9$
% снижения от контроля		$P < 0,01$	$P < 0,01$
		$5,6 \pm 0,5$	$4,9 \pm 0,3$
		$54,5 \pm 5,1$	$51,0 \pm 4,8$

Из результатов, представленных в таблице, видно, что сборы в присутствии всех используемых индукторов агрегации (АДФ, коллаген, адреналин) влияют на основные параметры агрегации (максимальная амплитуда 1 волны и скорость на 30 секунде), снижая их в разной степени. Сбор «Ангиофит-НМК» достоверно снижал агрегацию тромбоцитов под влиянием коллагена, АДФ и адреналина от 26,4% до 54,5% ($P < 0,01$). Антиагрегантная активность сбора «Ангиофит-НМК» оказалась выше препарата сравнения (26,4% и 20,5% соответственно). При введении сбора «Кардиофит-ИБС» при коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов процент снижения параметров оказался невысоким (10,3% и 6,8%) и снижение было недостоверно ($P > 0,05$). В остальных случаях сбор «Кардиофит-ИБС» в присутствии таких индукторов агрегации, как АДФ и адреналин, влиял на ее основные параметры (максимальная амплитуда 1 волны и скорость на 30 секунде), снижая их в среднем от 21,1 до 39,8 % в зависимости от вида индукции ($P < 0,05$). Антиагрегантная активность сбора «Кардиофит-ИБС» была несколько выше, чем у препарата сравнения - АСК (21,1% и 20,5% соответственно) [238, 241].

Определение антикоагулянтной активности

О влиянии сборов на свертываемость крови судили по времени образования тромбина (протромбиновое время). Протромбиновое время является наиболее чувствительным тестом для оценки образования тромбина. Антикоагулянтную активность определяли по увеличению протромбинового времени (глава 2, п.2.2.4.). Для исследований использовали 10% настой из сборов. Исследуемая доза сборов составляла в общем объеме исследуемой плазмы - 10%. Данные по исследованию влияния сборов на свертываемость крови представлены в таблице 8.3.6.

Таблица 8.3.6 - Влияние сборов на факторы протромбинового комплекса (n=8)

№ п/п	Группа	Протромбиновое время, сек	Протромбиновый индекс
1	Образец плазмы (контроль)	$14,0 \pm 1,1$	$0,93 \pm 0,05$
2	Образец плазмы + вода	$10,4 \pm 0,9$	$0,69 \pm 0,03$
		$P < 0,05$	$P < 0,01$
3	Образец плазмы + гепарин 3×10^{-5} г/мл	$17,9 \pm 1,9$	$1,19 \pm 0,10$
		$P < 0,05$	$P < 0,05$
	% снижения от контроля	27,9%	
4	Образец плазмы + сбор «Кардиофит-ИБС»	$17,0 \pm 2,0$	$1,13 \pm 0,07$
		$P < 0,01$	$P < 0,001$
	% снижения от контроля	21,4%	
5	Образец плазмы + сбор «Ангиофит-НМК»	$19,4 \pm 1,7$	$1,29 \pm 0,09$
		$P < 0,001$	$P < 0,001$
	% снижения от контроля	38,6%	

Из результатов, представленных в таблице, видно, что сборы достоверно снижают свертываемость крови. Сбор «Ангиофит-НМК» снижает свертываемость крови на 38,6%, сбор «Кардиофит-ИБС» на 21,4%. При проведении сравнительного анализа, оказалось что эффект сбора «Ангиофит-НМК» превышает по действию препарат сравнения (27,9%), сбор «Кардиофит-ИБС» несколько уступает. Следовательно, исследуемые сборы обладают антикоагулянтной активностью [241].

Определение антигипоксической активности

Антигипоксическая активность сборов изучалась на 40 молодых крысах одинакового веса (средняя масса 50 г и разброс не более 2-х г на группу). Сбор ввели внутривенно в виде 10% свежеприготовленного настоя с расчетом 1,5 мл/кг за 1 час до начала эксперимента. Помещали по одному жи-

вотному в герметически закрываемые банки объемом 500 мл (глава 2, п. 2.2.4.). За животными вели наблюдение до прекращения дыхания, отмечали время выживания и количество выживших и погибших животных в процентах. Результаты исследования представлены в таблице 8.3.7.

Таблица 8.3.7 - Антигипоксические свойства сборов
при нормобарической гипоксии с гиперкапнией

Группа	Время выживания в условиях гипоксии, мин	Количество выживших, %	Количество погибших, %
Контроль	44,7 ± 3,01	2	98
Сбор «Кардиофит-ИБС»	57,2 ± 3,24	48	52
Сбор «Ангиофит-НМК»	55,3±2,89	46	54

Из результатов, представленных в таблице, видно, что при введении внутрь настоев из сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» наблюдалось увеличение времени выживания на фоне контрольной группы на 12,5 и 10,6 минут и уменьшение гибели животных на 48% и 46% ($P<0,05$) соответственно. Далее было проведено исследование после двухнедельного приема сборов и жидких экстрактов из сборов. Результаты исследования представлены в таблице 8.3.8.

Таблица 8.3.8 - Антигипоксическая активность при двухнедельном введении

Группа	Время выживания, мин	Количество выживших, %	Количество погибших, %
Контроль	22,54±0,72	100,0	-
Билобил	24,13±0,34	66,66	33,34
Жидкий экстракт «Ангиофит-НМК»	24,32±0,68	66,66	33,34
Жидкий экстракт «Кардиофит-ИБС»	25,32±0,53	83,33	16,67
Сбор «Ангиофит-НМК»	26,37±1,32	100,0	-
Сбор «Кардиофит-ИБС»	25,87±1,25	100,0	-

Из результатов, представленных в таблице, видно, что применение настоев из сборов, жидких экстрактов и препарата сравнения (билобила) в течение 14 дней увеличивало время выживания на фоне контрольной группы: у сбора «Ангиофит-НМК» на 4,23 мин (17%), у сбора «Кардиофит-ИБС» на 3,33 мин (14,8%), у жидкого экстракта сбора «Ангиофит-НМК» на 2,18 мин (9,6%), у жидкого экстракта «Кардиофит-ИБС» на 2,78 мин (12,2%) ($P < 0,05$), что выше, чем у препарата сравнения - билобила - 1,59 мин (7,1%). Таким образом, можно сделать заключение о том, что исследуемые объекты обладают антигипоксической активностью.

Выводы к главе 8

1. Определена острая токсичность сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного. Доказано, что исследуемые сборы и листья боярышника кроваво-красного при однократном введении *per os* нетоксичны и в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 относятся к 4 классу «Вещества малотоксичные».

2. Изучены антиоксидантные свойства сборов и листьев боярышника кроваво-красного с использованием трех методик. Согласно спектрофотометрической методике наибольшей антиоксидантной активностью обладает сбор «Ангиофит-НМК» (77%), потом сбор «Кардиофит-ИБС» (67%) и листья боярышника кроваво-красного (57%). При использовании хемилюминесцентной методики оказалось, что лучше всех снижают образование АФК и уменьшают скорость ПОЛ листья боярышника кроваво-красного, потом сбор «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК», соответственно. Согласно результатам, полученным согласно экспресс-методике на парамециях, все объекты были отнесены к умеренно-активным веществам с преобладанием активности у листьев боярышника кроваво-красного.

3. Изучены фармакологические свойства сборов и листьев боярышника кроваво-красного. Установлено, что листья боярышника кроваво-красного обладают антиаритмическим, кардиопротективным, мембраностабилизирующим действием; сбор «Кардиофит-ИБС» - кардиопротективным, антиагрегантным, антикоагулянтным, мембраностабилизирующим, антигипоксическим действием; сбор «Ангиофит-НМК» - антиагрегантным, антикоагулянтным, антигипоксическим, мембраностабилизирующим действием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные экспериментальные исследования свидетельствуют о ключевой роли оксидантного стресса в формировании и прогрессировании различных заболеваний и необходимости ранней, планомерной и комплексной антиоксидантной коррекции.

В диссертационной работе выполнен системный анализ отечественной и зарубежной научной литературы в области использования антиоксидантов синтетического и природного происхождения для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии. На основании данного анализа выявлено, что наиболее изученные заболевания, в развитии которых большое значение приобретает оксидантный стресс, являются сердечно-сосудистые заболевания.

При создании лекарственных растительных средств актуальной проблемой является разработка методологических подходов к их созданию. На основании проведенных исследований разработан методологический подход по созданию лекарственных растительных средств на основе природных антиоксидантов, включающий в себя нескольких направлений исследований: маркетинговых, фармакологических, фармакогностических, технологических и разработки НД. Разработка теоретических положений и создание на их основе лекарственных растительных средств стали возможны благодаря комплексному использованию теоретических и экспериментальных методов исследования.

Впервые установлено в листьях боярышника кроваво-красного присутствие ряда флавоноидов, кумаринов, простых фенолов, оксикоричных кислот, терпеноидов, высших жирных кислот. Показано, что присутствующие фенольные соединения вносят вклад в антиоксидантные свойства листьев боярышника кроваво-красного и разработанный препарат на их основе – густой экстракт. На основании проведенных исследований доказано, что разработанные сборы могут служить источниками получения гидрофильных и липо-

фильных веществ, обладающих антиоксидантной активностью, что позволило обосновать и предложить препараты на их основе – жидкие экстракты. Научная новизна исследований подтверждена тремя патентами на изобретение. Разработаны проекты нормативной документации – фармакопейные статьи и фармакопейные статьи предприятия.

Результаты диссертационной работы внедрены в работу различных фармацевтических предприятий и учебный процесс кафедр фармацевтического профиля. Полнота публикаций диссертационной работы отражена в 59 научных статьях, в том числе – 21 статье в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России. Результаты исследований многократно апробированы на международных и российских конференциях.

Фармакологические испытания подтвердили целесообразность разработанных методологических подходов к созданию новых растительных лекарственных средств для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

В результате проведенных исследований согласно разработанной методологической схеме по созданию лекарственных средств, обладающих антиоксидантной активностью, решена проблема по созданию новых эффективных лекарственных препаратов и предложены научно-методические предпосылки для последующего изучения новых видов лекарственного растительного сырья или сборов для целенаправленного поиска новых сырьевых источников получения эффективных отечественных антиоксидантных препаратов.

ВЫВОДЫ

1. На основании обобщенных современных данных установлено, что недостаточно исследованы вопросы возможности использования растительных антиоксидантов в комплексном лечении заболеваний, связанных со свободнорадикальной патологией. Установлена необходимость расширения ассортимента лекарственного растительного сырья, обладающего антиоксидантной активностью, в том числе, за счет введения нового источника сырья - листьев боярышника кроваво-красного.
2. Экспериментально-теоретически обоснованы и разработаны методологические подходы к созданию новых растительных средств на основе лекарственных растений и многокомпонентных сборов, обладающих антиоксидантным действием.
3. Выявлены антиоксидантные свойства лекарственного растительного сырья и различных их сочетаний, которые легли в основу экспериментального обоснования составов двух новых сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.
4. Выявлены в ходе морфолого-анатомического исследования листьев боярышника кроваво-красного новые диагностические признаки, позволяющие объективно осуществлять идентификацию сырья. Впервые определены анатомические признаки черешка листа и прилистников боярышника кроваво-красного.
5. С использованием ВЭТСХ, ГХ/МС, ВЭЖХ, ЯМР-, УФ- и ИК-спектроскопии изучен компонентный состав биологически активных веществ листьев боярышника кроваво-красного, в результате чего идентифицировано 70 соединений различной природы. Установлена структура 17 выделенных веществ фенольной природы, из которых впервые в листьях боярышника кроваво-красного идентифицированы: изовитексин, физетин, дигидрокверце-

тин, нарингин, гесперидин, кофейная и хлорогеновая кислоты. Методом ВЭЖХ впервые в листьях боярышника кроваво-красного идентифицирован байкалеин. Методом ГХ/МС впервые установлено присутствие кумарана, α -гидрохинона, пирокатехина и хинной кислоты. В эфирном масле листьев боярышника кроваво-красного впервые идентифицировано 18 веществ, из которых преобладают соединения сесквитерпеновой природы: 1-этилиденоктагидро-7 α -метил-1Н-инден, ледол, α -фарнезен, α -кадиол. В липофильной фракции выявлены 19 веществ с преобладанием предельных и непредельных жирных кислот. Впервые методами ВЭЖХ и ГЖХ установлен состав полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного.

6. На основании морфолого-анатомических исследований сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» выявлены диагностически значимые признаки для стандартизации, позволяющие объективно оценивать качество сырья. С использованием хроматографических методов (ТСХ, ВЭТСХ, ВЭЖХ, ГХ/МС) изучен химический состав сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» и установлено содержание флавоноидов, органических кислот, кумаринов, суммы дубильных соединений, сапонинов, аскорбиновой кислоты, полисахаридов, эфирных масел, каротиноидов, аминокислот, макро- и микроэлементов.

7. Экспериментально обоснованы показатели подлинности и качества листьев боярышника кроваво-красного и сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК», необходимые при разработке проектов нормативной документации.

8. Разработаны фитопрепараты на основе сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» - жидкие экстракты, из листьев боярышника кроваво-красного – густой экстракт.

9. Изучены токсико-фармакологические свойства исследуемых сборов и листьев боярышника кроваво-красного. Установлены антиагрегантные, антикоагулянтные, антигипоксантные, антиоксидантные, мембраностабилизирующие свойства сбора «Ангиофит-НМК»; кардиопротективные, антиагрегантные, антикоагулянтные, антигипоксантные, антиоксидантные, мембраноста-

билизирующие свойства сбора «Кардиофит-ИБС»; антиаритмические, кардиопротективные, антиоксидантные, мембраностабилизирующие свойства листьев боярышника кроваво-красного.

10. Разработаны проект ФС «Боярышника кроваво-красного листа», проекты ФСП на сборы «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК», «Жидкий экстракт сбора «Ангиофит-НМК», «Жидкий экстракт сбора «Кардиофит-ИБС», «Густой экстракт боярышника кроваво-красного листьев», «Инструкция по сбору и сушке листьев боярышника кроваво-красного».

11. С учетом результатов фармакогностических, технологических и фармакологических исследований обоснована целесообразность создания антиоксидантных лекарственных средств для расширения рынка отечественных фармацевтических препаратов.

Рекомендации

Проведенные исследования могут быть использованы для создания и стандартизации новых лекарственных растительных препаратов и для целенаправленного поиска новых сырьевых источников получения эффективных отечественных антиоксидантов.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Перспективы дальнейшей разработки темы диссертационного исследования включают в себя такие направления, имеющие важное теоретическое и практическое значение: введение в отечественную номенклатуру растительного сырья листьев боярышника кроваво-красного, листьев боярышников других отечественных видов; листьев с цветками боярышника, сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит»; углубленное изучение их фармакологической активности и проведения доклинических и клинических испытаний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акимов, А.Г. Перспективы применения миокардиальных цитопротекторов в кардиологической практике / А.Г. Акимов, В.Ю. Полумисков // Terra medica nova. - 2005. - №4. - С. 6-9.
2. Ангарская, М.А. Влияние подорожника большого (*Plantago maior*) на течение экспериментального атеросклероза у кроликов / М.А. Ангарская, В.С. Соколова // Бюлл. эксперимент. биол. и мед. - 1962. - Т.58. - №4. - С. 50-53.
3. Анцышкина, А.М. Ботанико-фармакогностическое изучение боярышников Таджикистана (б. туркестанского, б. понтийского, б. гиссарского): автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02/ Анцышкина Алла Михайловна. - М, 1990. - 22 с.
4. Анцышкина, А.М. О фармакологической активности препаратов боярышника / А.М. Анцышкина, Е.И. Барабанов, И.А. Самылина, Н.В. Каверина. // Фармация. - 1990. - №2. - С. 63-65.
5. Атлас лекарственных растений СССР / под ред. Н.В. Цицина. М.: Госкомиздат, 1962. - С.45-48 .
6. Афанасьева, Т.Г. Результаты исследования потребительского поведения на рынке фитопрепаратов, применяемых для лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний / Т.Г. Афанасьева // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. трудов. - Пятигорск, 2010. - Вып.65 - С.534-536.
7. Ахрем, А.А. Тонкослойная хроматография / А.А. Ахрем, А.И. Кузнецова. - М.: Изд-во «Наука», 1995. - 175 с.
8. Ашихмин, Я.И. Современные стратегии антиангинальной фармакотерапии хронической ишемической болезни сердца / Я.И. Ашихмин // Фарматека.- 2012. - № 14. - С. 54-59.

9. Багирова, В.Л. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / Под ред. проф. В.Л. Багировой, проф. В.А. Северцева. - Спб.: СпецЛит, 2001. - 223 с.
10. Багирова, В.Л. О новых лекарственных средствах растительного происхождения / В.Л. Багирова, И.А. Баландина, И.А. Самылина // Фармация в XXI веке: инновации и традиции: тезисы докладов международной научной конференции. - Санкт-Петербург, 1999. - С. 135-136.
11. Бандюкова, В.А. Методы исследования природных флавоноидов: методические рекомендации / В.А. Бандюкова, А.Л. Шинкаренко. - Пятигорск, 1977. - 57 с.
12. Барабой, В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений / В.А. Барабой. - Киев, 1976. - 162 с.
13. Барабой, В.А. Растительные фенолы и здоровье человека / В.А. Барабой. - М.: Наука, 1984. - 160 с.
14. Барашков, Н.С. Клинико-экономические аспекты острых нарушений мозгового кровообращения у больных с артериальной гипертензией. Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.33/ Барашков Никита Сергеевич. - Ульяновск, 2010. - 25 с.
15. Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. - М.:Ньюдиамед-АО, 2001. - 296 с.
16. Барнаулов, О.Д. Фитотерапия больных сердечно - сосудистыми заболеваниями / О.Д. Барнаулов. - СПб.: «ЭЛБИ-СПб». - 224 с.
17. Безуглая, Е. П. Исследование высвобождения некоторых лекарственных веществ из различных основ для мазей и суппозиторий / Е. П. Безуглая, А. Г. Фадейкина // Фармаком. - 1999. - № 1. - С. 26-29.
18. Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. - 2-е изд., перераб. и доп. — Ленинград: Медгиз, 1963. - 146 с.

19. Беликов, В.В. Описание изобретения к авторскому свидетельству «Способ количественного определения флавоноидов в растительном сырье» / В.В. Беликов, Н.Т. Колесник // 1989.- SU 1507394 A1.
20. Белоусов, Ю.Б. Бетаксолол (Локрен) в клинических исследованиях последних лет: опыт применения у больных мягкой и умеренной артериальной гипертензией / Ю.Б. Белоусов [и др.] // Фарматека. - 2006. - №11 (126). - С. 50-54.
21. Белоусов, Ю.Б. Оценка фармакоэкономической эффективности аторвастатина (липримара) при вторичной профилактике ИБС. / Ю.Б. Белоусов, Н.А. Грацианский, А.А. Бекетов А.А. // Качественная клиническая практика. - 2002. - № 1. - С.62-70.
22. Белоусов, Ю.Б. Клиническая фармакология и фармакотерапия: руководство для врачей / Ю.Б. Белоусов, В.С. Моисеев, В.К. Лепахин. - 2-е изд. - Москва, 2000. - 540 с.
23. Бережкова, Л.В. Инсульт. Профилактика, лечение, реабилитация / Л.В. Бережкова. - СПб.: Издательский дом «Нева», 2003. - 128 с.
24. Богословская, Е.Н. Антиаритмическая активность Мексикора у больных острым инфарктом миокарда / Е.Н. Богословская, С.А. Сумин, В.П. Михин [и др.] // Вестник интенсивной терапии. - 2005. - №6. - С. 6-7.
25. Большакова, И.В. Антиоксидантные свойства групп экстрактов лекарственных растений / И.В. Большакова, Е.Л. Лозовская, И.И. Сапежинская // Биофизика. - 1998. - Т. 43, вып. 2. - С.186-188.
26. Бубенчикова, В.Н. Изучение пектиновых веществ травы шалфея поникающего (*Salvia nutans* L.) / В.Н. Бубенчикова, Ю.А. Кондратова // Университетская наука: теория, практика, инновации: сб.тр. 74-й науч. конф. КГМУ, сес. Центр.- Чернозем. науч. центра РАМН и отд-я РАЕН: в 3 т. Курск, 2009. - Т.2. - С.204-206.
27. Буданцев, А.Л. Дикорастущие полезные растения России / А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. - СПб.: СПХФА, 2001. - 663 с.

28. Букин, А.К. Социально-экономические аспекты реализации целевых комплексных программ профилактики сердечно-сосудистых заболеваний: дисс... канд.экон.наук: 08.00.05./ Букин Александр Кириллович. - Москва, 2009. - 237 с.
29. Вайс, Р.Ф. Фитотерапия / Р.Ф. Вайс, Ф. Финтельманн. - М.: Медицина. - 2004. - 552 с.
30. Валидация аналитических методик: проект ОФС 42-0113-09. - [Б., м.], 2009. - 12 с.
31. Валутина, Г.Г. Изыскание радиопротекторов среди кетосоединений / Г.Г. Валутина, С.А. Большакова, Т.Н. Тужилкова [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. - 1985. - Т. 19, №5. - С. 552-557.
32. Василенко, Ю.К. //4-ый Всесоюзный симпозиум по фенольным соединениям: тезисы докладов. Ташкент, 1982. – С. 12-13.
33. Васильева, О.В. Действие антиоксидантов на кинетику цепного окисления липидов в липосомах / О.В. Васильева, О.Б. Любичких, Г.И. Клебанов, Ю.А. Владимиров // Биологические мембраны. - 1998. - Т. 15, №2. - С. 177-183.
34. Вафин, Р. В. Боярышники. Интродукция и биологические особенности. / Р. В. Вафин, В. П. Путенихин. - М., 2003. - 240 с.
35. Верещагин, Н.В. Инсульт. Принципы диагностики, лечения и профилактики: краткое руководство для врачей / Н.В. Верещагин, М.А. Пирадов, З.А. Суслина. - М., 2002. - 206 с.
36. Ветров, П.П. Определение содержания липофильных веществ и суммы каротиноидов в растительном сырье / П.П. Ветров, С.В. Гарная // Химико-фармацевтический журнал. - 1989. - №3. - С. 34-38.
37. ВФС 42-1728-87 «Трава барвинка малого».
38. Галиахметова, Э.Х. Разработка и стандартизация сбора для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообращения: дисс...канд.фарм.наук: 15.00.02 / Галиахметова Эльвира Халитовна. - Пермь, 2007. - 219 с.

39. Гаранина, Е.Н. Стандартизация и контроль качества исследований протромбинового времени (обзор литературы) / Е.Н. Гаранина, Н.А. Авдеева // Клиническая лабораторная диагностика. - 1994.- № 6. - С.23-25.
40. Гареева, Е.Р. Разработка эффективных методов рационального и стандартизации фармакотерапии сердечно-сосудистых заболеваний: автореф. дисс...канд.фарм.наук: 15.00.01 / Гареева Елена Ринатовна. - Москва, 2005. - 24 с.
41. Георгиевский, В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комиссаренко, С.Е. Дмитрук. - Новосибирск: Наука, 1990. - 333 с.
42. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. - М.: Бином, 1999. - 459 с.
43. Голиков, А.П. Антиоксиданты - цитопротекторы в кардиологии / А.П. Голиков, В.Ю. Полумисков, В.П. Михин [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2004. - №6, Часть 2. - С.45-49.
44. Голиков, А.П. Влияние Мексикора на окислительный стресс при остром инфаркте миокарда / А.П. Голиков, Б.В. Давыдов, Д.В. Руднев [и др.] // Кардиология. - 2005. - №7. - С. 21-26.
45. Голиков, А.П. Новые возможности лечения и профилактики гипертонических кризов у больных с сочетанием гипертонической болезни и ишемической болезни сердца / А.П. Голиков, М.М. Лукьянов, В.Ю. Полумисков [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2005. - №3. - С. 10-16.
46. Голиков, А.П. Свободнорадикальное окисление и сердечно-сосудистая патология: коррекция антиоксидантами / А.П. Голиков, С.А. Бойцов, В.П. Михин [и др.] // Лечащий Врач. - 2003. - №4.- С.23-27.
47. Гончаров, Н.Ф. Гидроксикоричные кислоты *Crataegus chlorocarpa* Leneet C. Koch., *Crataegus rotundifolia* Medic. / Н.Ф. Гончаров. // Кубанский научный медицинский вестник. - 2009. - №3. - С. 42-43.

48. Гончаров, Н.Ф. Изучение состава липофильных соединений представителей рода боярышник / Н.Н. Гончаров, И.В. Михайлов, Н.Ф. Гончаров, Е.В. Терешонок // Фундаментальные науки. – 2014. - № 11. – С.357-361.
49. Гончаров, Н.Ф. Изучение эфирных масел цветков североамериканских видов боярышников / Н.Ф. Гончаров. // Кубанский научный медицинский вестник. - 2008. - №5. - С. 52-55.
50. Гончаров, Н.Ф. Сравнительное изучение гидроксикоричных кислот и флавоноидных соединений плодов некоторых видов *Crataegus* L. / Н.Ф. Гончаров. // Кубанский научный медицинский вестник. - 2008. - №5. - С. 49-52.
51. Гончаров, Н.Ф. Фенольные соединения североамериканских видов рода боярышник / Н.Ф. Гончаров, А.М. Ковалева, А.Н. Комиссаренко. // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. - 2008. - №3. - С. 150-154.
52. ГОСТ 12.1.007-76 Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.
53. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 3 т. Т. 2: Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общей редакцией А. А. Шерякова. - Молодечно: Тип. «Победа», 2008. - 472 с.
54. Государственная фармакопея Российской Федерации: ГФ. Ч. 1. - 12 изд. - Москва: Науч. центр экспертизы средств мед. применения, 2008. - 704 с.
55. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье // МЗ СССР. - 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1989. - 400 с.
56. Государственная фармакопея СССР: Вып.1. Общие методы анализа // МЗ СССР.- 11-е изд.,доп. - М.: Медицина, 1987. - 333 с.
57. Государственные стандарты: Лекарственное растительное сырье. - М.: Издательство стандартов, 1980. - 296 с.

58. Грацианский, Н.А. Очередное (окончательное?) подтверждение неэффективности антиоксидантных витаминов в профилактике коронарной болезни сердца и ее осложнений / Н.А. Грацианский // Кардиология. - 2002. - №2. - С. 85-86.
59. Григорьев, О.А. Разработка методов стандартизации лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов с применением флуоресцентного анализа /О.А. Григорьев // Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты: материалы I международного научного конгресса. - М., 1994. - С. 155.
60. Гринкевич, Н.И. Химический анализ лекарственных растений / Под редакцией Н.И. Гриневич, Л.Н.Сафронич. - М.: Высшая школа, 1983. - С. 17-18.
61. Гусев, Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова. - М.: Медицина, 2001. - 327 с.
62. Гусев, Е.И. Нейропротективная терапия ишемического инсульта / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова // Журн. неврол. психиатр.: Инсульт: приложение к журн. - 2002. - Вып. 5. - С. 3-16.
63. Гусев, Е.И. Терапия ишемического инсульта / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, И.А. Платонова // Consilium medicum. Специальный выпуск «Неврология», 2003. - 18-25с.
64. Гусейнов, Д.Я. Фармакология боярышника /Д.Я. Гусейнов. - Б.: Азернешр. - 1985. - 154 с.
65. Даргаева, Т.Д. Изучение фенольных соединений и элементного состава травы фиалки двуцветковой (*Viola biflora* L.), произрастающей в Восточной Сибири / Т.Д. Даргаева, О.П. Сайбель, А.М. Мартынов [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2009. - № 4. - С.58-60.
66. Дедов, И.И. Йоддефицитные заболевания в РФ. Методическое пособие МЗ РФ. / И.И. Дедов, Г.А. Герасимов, Н.Ю. Свириденко. - Москва, 1999. - 365 с.

67. Демографический ежегодник России, 2010.
68. Дорожко, А.И. Хелатирующее и антирадикальное действие рутина в процессе перекисного окисления липидов микросом и липосом / А.И. Дорожко, А.В. Бродинский, И.Б. Афанасьев // Биохимия. - 1998. - Т. 53, вып. 10. - С. 1660-1666.
69. Евдокимова, О.В. Изучение липофильной фракции плодов боярышника / О.В. Евдокимова, И.А. Самылина, О.В. Нестерова. // Фармация. - 1992. - №3. - С. 60-61.
70. Евдокимова, О.В. Определение содержания суммы фосфолипидов и каротиноидов в плодах некоторых видов боярышника (*Crataegus* L.) / О.В. Евдокимова, И.А. Самылина, О.В. Нестерова // Фармация. - 1992. - №6. - С.70-72.
71. Евдокимова, О.В. Средства растительного происхождения в терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы / О.В. Евдокимова // Новая аптека. Аптечный ассортимент. 2005 - №7. - С. 29-34.
72. Евдокимова, О.В. Фармакологическое действие препаратов боярышника / О.В. Евдокимова // Современные проблемы фармацевтической науки и практики: научные труды ВНИИФ. - 1999. - Т. 38, Ч. 2. - С.205-212.
73. Егуткин, Н.Л. Определение содержания йода в ламинарии и бальзаме «Ламинария с травами» производства ООО «Травы Башкирии» / Н.Л. Егуткин, Н.Л. Груздева, Р.Г. Фархутдинов // Здравоохранение Башкортостана. - 2003. - № 4. Спец. выпуск. - С. 57-64.
74. Ермилова, Е.В. Антиокислительная активность экстрактов водяники черной / Е.В. Ермилова, Т.В. Кадырова, Е.А. Краснов, С.И. Писаренко [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. - 2000. - Т. 34, №11. - С. 28-30.
75. Заркуа, Т.Г. Количественное определение тритерпеновых сапонинов в многокомпонентной растительной композиции / Т.Г. Заркуа, Д.М. Попов, А.Д. Бакуридзе // Современные аспекты изучения лекарственных растений: научные труды ВНИИФ. - Москва, 1995. - Т. 34. - С.177-180.

76. Затейщиков, Д.А. Проблемы безопасности статинов / Д.А. Затейщиков // Фарматека. - 2005. - № 8. - С.13.
77. Здоровый образ жизни и профилактика заболеваний / Под редакцией Ющука Н.Д., Маева И.В., Гуревича К.Г. - М.: Издательство «Перо», 2012. - 659 с.
78. Земцова, Г.Н. Флавоноиды как лекарственные препараты / Г.Н. Земцова, С.А. Бандюкова // Фармация. - 1982. - № 3. - С.68-70.
79. Зинченко, Л. А. Изучение промышленных отходов фармацевтического производства как дополнительных источников биологически активных соединений: (на примере шрота плодов боярышника и шрота листьев мяты): автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Зинченко Лариса Александровна. - Пятигорск, 2007. - 23 с.
80. Золотов, Ю.А. Очерки аналитической химии/ Ю.А. Золотов. - М., 1977. - 368 с.
81. Зубарев, А.Ю. Гигиеническая оценка воздействия химических факторов риска на сердечно-сосудистую систему и организация профилактической модели амбулаторно-поликлинической помощи: дисс... канд. мед.наук:14.00.07 /Зубарев Анатолий Юрьевич. - Пермь, 2011.- 193 с.
82. Зыков, В.П. Ишемический инсульт у детей и подростков. Актуальные проблемы восстановительного периода / В.П. Зыков, И.Б. Комарова, В.Г. Черкасов // Журн. медицина. Инсульт. - М., 2006. - №2 (13). - С. 20- 24.
83. Ивашев, М.Н. Влияние антиоксиданта «Сосудистый доктор» на параметры центральной гемодинамики при эксперименте инфаркта миокарда / М.Н. Ивашев, Э.М. Ивашева, Т.О. Ныркова // Человек и лекарство: тезисы докладов XII Рос.нац. конгресса. - Москва, 2005. - С.666.
84. Иващенко, Н.В. «Гнафалин» - новый лекарственный сбор в лечении сердечно-сосудистых заболеваний / Н.В. Иващенко, И.А. Самылина, М.Е. Кузминова [и др.] // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 10 международного съезда фитофарм. - Санкт-Петербург, 2006. - С.111-114.

85. Ивкин, Д.Ю. Изучение фармакологической активности 4-метил-7,7'-этилен-диокси-ди-2Н-1-бензопиран-2,2'-диона / Д.Ю. Ивкин // Медицинский академический журнал. – 2010. – № 5(10). – С. 159.
86. Инчина, И.В. Ангиопротекторная активность Мексикора при облитерирующем атеросклерозе артерий нижних конечностей / И.В. Инчина, Л.Д. Смирнов, М.Д. Романов [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2007. – Т. 13, №3. – С. 17-20.
87. Каверина, Н.В. Изучение специфической антиаритмической активности препаратов боярышника / Н.В. Каверина, З.П. Сеннова, И.А. Самылина [и др.]. // Фармация. – 1988. – №6. – С. 33-36.
88. Каверина, Н.В. Методические рекомендации по экспериментальному (фармакологическому) изучению препаратов, предлагаемых для клинических испытаний в качестве средств для профилактики и лечения нарушений сердечного ритма / Н.В. Каверина, З.П. Сеннова. – М., 1981. – 154 с.
89. Казаринова, Н.В. Лекарственные растения Сибири для лечения сердечно-сосудистых заболеваний / Н.В. Казаринова, М.Н. Ломоносова, В.М. Триль // Новосибирск: Наука, 1991. – 240 с.
90. Кардиоваскулярная профилактика. Национальные рекомендации // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2011. – № 10 (6), приложение 2. – 64 с.
91. Кашникова, М.В. Ацетилвитексин - новый флавоноид из цветков *Crataegus sanguinea* / М.В. Кашникова, В.И. Шейченко, В.И. Глызин [и др.]. // Химия природных соединений. – 1984. – №1. – С.108-109.
92. Кашникова, М.В. Флавоноиды цветков *Crataegus sanguinea* // Химия природных соединений. – 1984. – №1. – С.108.
93. Кашникова, М.В. Фармакогностическое изучение сырья боярышника: автореф. дисс. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Кашникова Марина Владимировна. – М., 1984. – 20 с.

94. Киселева, Т.Л. Изучение микроэлементного состава препаратов / Т.Л. Киселева, И.А. Самылина, Л.П. Орлова, В.П. Фролов. // Хим.-фармацевт. журн. - 1989. - №5. - С.614-618.
95. Киселева, Т.Л. Изучение химического состава нефармакопейных видов боярышника и разработка показателей качества сырья: автореф. дис. ... канд. фармац. наук: 15.00.02 /Киселева Татьяна Леонидовна. - М., 1988. - 21 с.
96. Клышев, Л.К. Флавоноиды растений / Л.К. Клышев, В.А. Бандюкова, Л.С. Алюкина. - Алма-Ата: Наука, 1978. - 220 с.
97. Ковалев, В.Н. Практикум по фармакогнозии: учеб. пособие для студ. вузов / В.Н. Ковалев [и др.]. - Харьков: Изд-во НФаУ; Золотые страницы; МТК-Книга, 2004. - 512 с.
98. Ковалева, Н.Г. Лечение растениями / Н.Г. Ковалева. - М.: Москва, 1972. - 356 с.
99. Концевая, А.В. Социально-экономическая эффективность школ здоровья для больных ИБС в первичном звене здравоохранения. Эффективная фармакотерапия / А.В. Концевая, Е.Ю. Спивак, А.М. Калинина // Кардиология и Ангиология. - 2011. - №1. - С.45-49.
100. Корепанова, Н.С. Фармакогностическое изучение пастушьей сумки обыкновенной: автореф. дисс...канд. фарм. наук:15.00.02 / Корепанова Наталья Степановна.- Пермь, 1999. - 17 с.
101. Корсун, В.Ф. Лекарственные растения при сердечно-сосудистых заболеваниях / В.Ф. Корсун, С.А. Ройзман, Т.В. Чуйко. - Мн., 2003. - 179 с.
102. Корсун, В.Ф. Фитотерапия: Традиции российского травничества / В. Ф. Корсун, Е. В. Корсун. - М. : Эксмо, 2010. - 880 с.
103. Корулькин, Д.Ю. Природные флавоноиды / Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музычкина, Г.А. Толстиков // Новосибирск: Академ.изд-во «Гео», 2007. – 232 с.

104. Косарев, В.В. Антиагреганты при ишемической болезни сердца: состояние проблемы / В.В. Косарев, С.А. Бабанов // Consilium medicum. - 2010. - Т.12, № 5. - С. 24-30.
105. Котляров, А.А. Влияние метаболической терапии Мексикором на течение брадиаритмий / А.А. Котляров, О.И. Аросланкина // Медицинский совет. - 2007. - № 4. - С. 71-75.
106. Котова, Э.Э. Стандартизация плодов боярышника и лекарственных препаратов на их основе по показателю «Количественное определение» / Э.Э. Котова, А.Г. Котов, Н.П. Хованская // Фармаком. - 2004. - №4. - С. 35 - 41.
107. Кочетков, Н.К. Химия биологических активных природных соединений / Н.К. Кочетков. - М.: Химия, 1970. - 378 с.
108. Краснов, Е.А. Выделение и анализ биологически активных веществ / Е.А. Краснов, Н.В. Березовская, Н.В. Алексюк [и др.]. - Томск, 1987. - 184 с.
109. Краткосрочные экономические показатели Российской Федерации: статистический сборник. - М.: Госкомстат России, 2008. - 45 с.
110. Криштанова, Н.А. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств / Н.А. Криштанова, М.Ю. Сафонова, В.У. Болотова [и др.] // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2005. - №1. - С.212-221.
111. Кудашкина, Н.В. Фитохимический анализ: учеб. пособие по фармакогнозии для студентов. / Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова, С.А. Мещерякова. - Уфа.: Издательство ГОУ ВПО БГМУ РосЗдрава, 2007. - 281 с.
112. Кузнецова, Г.А. Природные кумарины и фурукумарины / Г.А. Кузнецова. - Л.: Наука, 1967. - 247 с.
113. Куркин, В.А. Антиоксидантная активность некоторых тонизирующих и гепатопротекторных фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды / В.А. Куркин, О.Л. Кулагин, Н.С. Додонов и [др.] // Растительные ресурсы. – 2008. – Т.44, вып.1. – С.122-129.

114. Куркин, В.А. Антидепрессантные свойства экстракта плодов боярышника кроваво-красного / В.А. Куркин, А.В. Куркина, Е.Н. Зайцева, О.В. Правдивцева, Т.В. Морозова // III научно-практическая конференция «Современные аспекты исследования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине»: сборник материалов конференции. - Москва, 2015. – С.
115. Куркин, В.А. Диуретические свойства экстракта боярышника кроваво-красного / В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, А.В. Куркина и др. // Фармация и общественное здоровье: материалы науч. конф. – Екатеринбург, 2014. – С. 96-100.
116. Куркин, В.А. Основы фитотерапии: учебное пособие / В.А. Куркин. – Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009. – 963 с.
117. Куркин, В.А. Сравнительное фитохимическое исследование сырья двух видов рода *Crataegus* / В.А. Куркин, А.В. Дубищев, А.В. Куркина, О.Е. Правдивцева // Интер-Медикал. -2014. -№ 5. – С. - 92.
118. Куркин, В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов / В.А. Куркин. - Самара: ООО «Офорт» СамГМУ, 2004. - 1180 с.
119. Куркин, В.А. Фенилпропаноиды лекарственных растений / В.А. Куркин, Г.Г. Запесочная, Е.В. Авдеева, В.Н. Ежков. - Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ», 2005. - 128 с.
120. Кучеров, Е.В. Лекарственные растения Башкирии, их использование и охрана / Е.В. Кучеров, Д.Н. Лазарева, В.К. Десяткин. - Уфа, 1989. - 272 с.
121. Кучин, А.В. Антиоксиданты: химия и применение / А.В. Кучин, И.Ю. Чукичева // Вестник Уральского отделения РАН. - 2011. - №3(37). - С.43-57.
122. Ладыгина, Е.Я. Химический анализ лекарственных растений / Е.Я. Ладыгина, Л.Н. Сафронич, В.Э. Отряшенкова [и др.]. М.: Высшая школа, 1983. - 176 с.

123. Лазарева, Д.Н. Фитотерапия заболеваний сердечно-сосудистой системы / Д.Н. Лазарева, В.В. Плечев, Л.И. Самигуллина [и др.]. - Уфа, 2003. - 127 с.
124. Лазуко, С.С. Сравнительная оценка антиаритмической активности настоек боярышника, полученных различными способами / С.С. Лазуко, А.А. Красильников, Г.А. Хуткина [и др.] // Вестник фармации. - 2009. - №2 (44). - С. 55-64.
125. Лазуко, С.С. Сравнительная оценка влияния настоек боярышника, полученных различными способами, на электрическую активность миокарда у кроликов / С.С. Лазуко, А.А. Красильников, Г.А. Хуткина [и др.] // Вестник фармации. - 2008. - №1 (39). - С. 48-52.
126. Леонова, М.В. Экстракционные методы изготовления лекарственных средств из растительного сырья / М.В. Леонова, Ю.Н. Климошкин. - Самара, Сам.гос.техн. ун-т, 2012. - 111 с.
127. Лесиовская, Е.Е. Доказательная фитотерапия. Том 1. / Е.Е. Лесиовская // М.: Ремедиум, 2014. – 224 с.
128. Лесиовская, Е.Е. Фармакотерапия с основами фитотерапии. Учебное пособие для вузов / Е.Е. Лесиовская, Л.В. Пастушенков. - М. 2003.- 592 с.
129. Липкан, Г.Н. Изучение токсичности некоторых витаминных препаратов в эксперименте / Г.Н. Липкан // Фармакология и токсикология: республиканский межведомств. сборник. - Киев: Здоровья, 1972. - Вып. 7. - С. 128-131.
130. Локтева, О.М. Проблемы создания новых кардиотропных препаратов растительного происхождения / О. М. Локтева // 4 Рос. нац. конгр. "Человек и лекарство": тезисы докладов. – Москва, 1997. - С. 75.
131. Ломбоева, С.С. Динамика накопления флавоноидов в надземной части ортилии однобокой (*Orthilia secunda* (L.) House) / Ломбоева С.С., Танхаева Л.М., Оленников Д.Н.// Химия растительного сырья. - 2008. - №3. - С. 83-88.

132. Ляхова, Н.С. Фармакологическое изучение суммарных извлечений из плодов боярышника: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 14.00.25 / Ляхова Наталья Сергеевна. - Пятигорск, 2008. - 22 с.
133. Маевский, П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. 10-е изд / П.Ф. Маевский. - Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2006. - 600 с.
134. Максютин, Н.П. Методы выделения и исследования флавоноидных соединений / Н.П. Максютин, В.И. Литвиненко // Фенольные соединения и их биологические функции. - М.: Наука, 1968. - С. 7-26.
135. Марьин, А.А. Разработка и стандартизация сердечно-сосудистого сбора: автореферат дис. ... канд.фарм.наук: 15.00.02 / Марьин Андрей Александрович. - Томск, 2006. - 23 с.
136. Маслов, Л.Н. О перспективах применения флавоноидов для профилактики атеросклероза и атеротромбоза / Л.Н. Маслов // Клиническая фармакология и терапия. - 2007. - Т.16, №3. - С.60-67.
137. Машковский, М. Д. Лекарственные средства: пособие для врачей. / М.Д. Машковский. - 15-е изд., перераб., испр. и доп. - М.: Новая волна, 2008. - 425 с.
138. Меерсон, Ф.З. Нарушение сократительной функции неишемизированного отдела сердца при экспериментальном инфаркте миокарда и его предупреждение / Ф.З. Меерсон, Р.С. Досмагамбетова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1982. - № 6. - С. 57-60.
139. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных / Хроника ВОЗ. - 1985. - № 39(3). - С. 3-96.
140. Минаева, В.Г. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование / В.Г. Минаева. - Новосибирск: Наука, 1978. - 254 с.
141. Михин, В.П. Эффективность пролонгированных нитратов у больных стабильной стенокардией напряжения на фоне сочетанного применения Мексикора / В.П. Михин, Т.Ю. Михайлова, А.В. Харченко [и др.] // Кли-

- нические исследования лекарственных средств в России. - 2003. - №2 - С. 23.
142. Нестерова, Ю.В. Некоторые механизмы стресс-протективного действия вытяжек из девясила высокого: автореф. дис. ... канд. мед. наук:14.00.25 / Нестерова Юлия Владимировна. - Томск, 2003. - 24 с.
 143. Никитин, А.А. Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений / А.А. Никитин, И.А. Панкова. - Ленинград «Наука», Ленинградское отделение, 1982. - 768 с.
 144. Никитина, Т.И. Обоснование составления и стандартизации сборов / Т.И. Никитина, К.А. Пупыкина, Н.В. Кудашкина [и др.] // 2-й научный конгресс: теоретические и практические аспекты: сборник материалов конгресса. - Чебоксары, 1996. - С. 90.
 145. Никитина, Т.И. Фармакогностические исследования по разработке лекарственных растительных средств противовоспалительного, ранозаживляющего и антиаллергического действия: дисс.... доктора фарм. наук: 15.00.02 / Никитина Татьяна Ивановна. - Пермь, 1996. - 335 с.
 146. Николаев, С.М. Растительные лекарственные препараты при повреждениях гепатобилиарной системы / С.М. Николаев. - Новосибирск: ВО «Наука» Сиб. издательская фирма, 1992. - 155 с.
 147. Николаев, С.М. Суммарный лекарственный чай - новая лекарственная форма многокомпонентных препаратов / С.М. Николаев, Г.А. Российская // Бюллетень СО АМН СССР, 1986. - №4. - С. 11-18.
 148. Никонов, Г.К. Основы современной фитотерапии / Г. К. Никонов, Б. М. Мануйлов. - М: Медицина, 2005. - 520 с.
 149. Оболенцева, Г.В. Растительные фенольные соединения и перспективы создания препаратов на их основе / Г.В. Оболенцева //4-ый Всесоюзный симпозиум по фенольным соединениям: тезисы докладов. Ташкент, 1982. – С. 35-36.
 150. ОСТ 91500.05.001-00 Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения.- М.,2001. - 38 с.

151. ОФС 42-0087-08. Потеря в массе при высушивании. - [Б., м.], 2008. - 1 с.
152. Пастушенков, Л.В. Фармакотерапия с основами фитотерапии: учебник / Л.В. Пастушенков, Е.Е. Лесиовская. - СПб.: СПХФИ, 1994. - ч. 1. - 160 с.
153. Пастушенков, Л.В. Фармакотерапия с основами фитотерапии: учебник / Л.В. Пастушенков, Е.Е. Лесиовская. - СПб.: СПХФИ, 1995. - ч. 2. - 250 с.
154. Пашинский, В.Г. Лечение травами / В.Г. Пашинский. - Новосибирск: Наука, 1989. - 145 с.
155. Пашкова, Г.В. Ренгенофлуоресцентный анализ молока и основанных на нем продуктов / Г.В. Пашкова // Аналитика и контроль. - 2010. - Т.14, № 1. - С.4-15.
156. Перинова, Р.А. Спектрофотометрическое определение суммы флавоноидов в сухом экстракте гипотензивного действия / Р.А. Перинова, Т.А. Асеева, Д.А. Потанина // Физиолого-биохимические аспекты изучения лекарственных растений: материалы международного совещания, посвященного памяти В.Г. Минаевой. - Новосибирск, 1998. - С. 50.
157. Пивоваренко, В.Г. Синтез и антиоксидантная активность изофлавонов, содержащих гидрофильные и липофильные заместители / В.Г. Пивоваренко, А.В. Туганова, Л.Ф. Осинская [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. - 1997. - Т. 33, №3. - С. 14-18.
158. Письмо МЗ РФ 13-2/1288 от 28.09.2014: офиц. текст. - 3 с.
159. Плотников, М.Б. Диквертин усиливает антитромбоцитарный эффект ацетилсалициловой кислоты и улучшает деформируемость эритроцитов на моделях сердечно-сосудистой патологии / М.Б. Плотников // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 6 Международного съезда. Санкт-Петербург, 2002. - С. 476-479.
160. Полосьянц, О.Б. Витамины-антиоксиданты в профилактике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний / О.Б. Полосьянц, Л.А. Алексанян //

Русский медицинский журнал, раздел Кардиология. - 2005. - №11. - С.780.

161. Полумисков, В.Ю. Сравнительная эффективность кардиопротекторов Мексикора и Предуктала МВ у больных стабильной стенокардией напряжения на фоне антиангинальной терапии пролонгированными нитратами и бета-адреноблокаторами / В.Ю. Полумисков, В.П. Михин, Т.Ю. Михайлова [и др.] // Человек и лекарство: тезисы докладов XI Российского национального конгресса. - Москва, 2004. - С. 258.
162. Попова, Л.М. Тромболитическая терапия стрептодеказой при ишемическом инсульте / Л.М. Попова, В.Н. Пирогов // Журн. невропат. и психиатр. - 1986. - №12. - С. 1777-1781.
163. Потанина, А.П. Исследование антиоксидантной активности сбора «Кардиофит» хемилюминесцентным методом / А.П. Потанина, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, Р.Р. Фархутдинов // Традиционная медицина. - 2013. - №5, Т.8. - С. 75 - 77.
164. Потанина, О.Г. Количественное определение компонентов сборов микроскопическим методом / О.Г. Потанина, И.А. Самылина // Фармация. - 2003. - №6. - С.14-16.
165. Потанина, О.Г. Оценка доброкачественности лекарственного растительного сырья с учетом диагностически значимых признаков / О.Г. Потанина, И.А. Самылина // Фармация. - 2003. - №4. - С. 12-14.
166. Приказ МЗ РФ от 21.10 1997 №308 «Инструкции по изготовлению в аптеках жидких лекарственных форм»: офиц.текст. - 68 с.
167. Профилактика хронических неинфекционных заболеваний: рекомендации / под. ред. С.А. Бойцова, А.Г. Чучалина. - М.: Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, 2013. - 136 с.
168. Пустырский, И.Н.. Лекарственные растения: справочник / И.Н. Пустырский, В. Н. Прохоров // М., 2005. - 65 с.

169. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.1. / Под ред. А.Л. Буданцева. - СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. - 421 с.
170. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.2. / Под ред. А.Л. Буданцева. - СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. - 513 с.
171. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.3. / Под ред. А.Л. Буданцева. - СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. - 601 с.
172. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.4. / Под ред. А.Л. Буданцева. - СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. - 630 с.
173. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.5. Часть 1 / Под ред. А.Л. Буданцева. - СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. - 317 с.
174. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.5. Часть 2 / Под ред. А.Л. Буданцева. - СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2013. - 312 с.
175. Родионова, Т.В. Сравнительная количественная оценка содержания флавоноидов в растительном сырье боярышника кроваво-красного / Т.В. Родионова, О.М. Хишова // Вестник фармации. - 2008. - №1 (39). - С.15-18.
176. Родионова, Т.В. Стандартизация листьев боярышника / Т.В. Родионова, О.М. Хишова // Вестник фармации. - 2008. - №2 (40). - С.70-78.

177. Рожкова, Т.И. Клинико-эпидемиологический анализ качества оказания медицинской помощи больным с инсультом в отдельных регионах Российской Федерации (по данным госпитального регистра): автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.11/ Рожкова Татьяна Игоревна. - Москва, 2011. - 24 с.
178. Рогинский, В.А. Фенольные антиоксиданты / В.А. Рогинский // М.: Медицина, 1988. – 247 с.
179. Румянцева, Ж.Н. Поиски гепатопротекторов среди препаратов растительного происхождения / Ж.Н. Румянцева, Я.С. Гудивок // Растительные ресурсы. - 1993. - Т. 29, вып. 1. - С. 88-97.
180. Рунович, А.А. Влияние ксеногенных неонатальных кардиомиоцитов на индукцию белков теплового шока при катехоламиновом повреждении миокарда в эксперименте. / А.А. Рунович [и др.] //Современные наукоемкие технологии. - 2004. - № 3. - С. 117-118.
181. Рыжакова, А.В. Товароведение и экспертиза кондитерских товаров / А.В. Рыжакова. - М.: Академия, 2005. - 223 с.
182. Рыжикова, М.А. Влияние водных извлечений из некоторых лекарственных растений на процессы свободно-радикального окисления. / М.А. Рыжикова [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 1999. - Т.62, № 2. - С. 36-38.
183. Рыжикова, М.А. Влияние некоторых гепатопротекторных лекарственных растений на процессы свободнорадикального окисления в модельных системах и в экспериментах *in vivo* / М.А. Рыжикова, Р.Р. Фархутдинов, Ш.З. Загидуллин, С.В. Сибиряк // Эфферентная терапия. - 1998. - Т. 4, №2. - С. 39-42.
184. Савельева, В.В. Эффективность кардиоцитопротектора Мексикора в комплексной терапии хронической сердечной недостаточности / В.В. Савельева, В.П. Михин, Т.В. Григорьева // Медицинский академический журнал. - 2006. - Т.1, № 7 - С.23-26.

185. Сазонова, Т.Г. Антиоксиданты и прооксиданты: две стороны одного целого. Часть 1 / Т.Г. Сазонова // Профилактика today. - 2007. - № 9. - С. 18-23.
186. Сазонова, Т.Г. Антиоксиданты и прооксиданты: две стороны одного целого. Часть 2 / Т.Г. Сазонова // Профилактика today. - 2008. - № 3. - С. 14-20.
187. Саканян, Е.И. Некоторые вопросы технологии и анализа фитопрепаратов / Е.И. Саканян // Формирование приоритетов лекарств. политики: матер. докладов Российс. национ. конф.- Москва, 1995. - С. 186-188.
188. Саканян, Е.И. Разработка составов, технологии и методов анализа лекарственных препаратов из растительного сырья: автореф. дис. ...д-ра фарм. наук: 15.00.01 / Саканян Елена Ивановна.- Санкт-Петербург, 1996. - 48 с.
189. Самылина, И. А. Разработка показателей качества настоя цветков боярышника / И.А. Самылина, Т.Л. Киселева, О.В. Евдокимова // Хим.-фармацевт. журн. - 1990. - Т.24. - №1. - С. 52-53.
190. Самылина, И.А. Изучение химического состава нефармакопейных видов боярышника и оценка их фармакологической активности / И.А. Самылина, Т.Л. Киселева. // Фармация. - 1990. - №1. - С.12-17.
191. Самылина, И.А. Использование хлорида алюминия для определения суммы флавоноидов в цветках боярышника / И.А. Самылина, О.В. Евдокимова, М.В. Кашникова // Фармация. - 1994. - №6. - С. 42-45.
192. Самылина, И.А. Количественное определение суммы флавоноидов в плодах боярышника / И.А. Самылина, Т.Л. Киселева // Фармация. - 1987. - №5. - С. 30-32.
193. Самылина, И.А. О фармакологической активности препаратов боярышника / И.А. Самылина // Фармация. - 1990. - №2. - С. 63-65.
194. Самылина, И.А. Проблемы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных средств /И.А. Самылина // Традиционная ме-

- дицина и питание: теорет. и практ. аспекты: материалы I Междунар. науч. конгресса. - Москва, 1994. - С. 302.
195. Сараф, А.С. Флавоноиды - как потенциальные противоаллергические соединения (обзор) / А.С. Сараф, Э.Т. Оганесян // Химико-фармацевтический журнал. - 1991. - Т. 25, №2. - С. 4-8.
 196. Сафонова, М.Ю. Изучение сборов для профилактики и лечения нарушений ритма сердца / М.Ю. Сафонова, Е.И. Саканян, Е.Е. Лесиовская [и др.] // Актуальные проблемы создания новых лекарственных средств: тез. докл. Всерос. науч. конф. - Санкт-Петербург, 1996. - С. 161.
 197. Свободно-радикальное окисление и антиоксидантная защита при сахарном диабете. Пособие для врачей / под ред. И. И. Дедова - Москва, 2003. - 40 с.
 198. Сернов, Л.Н. Клинико-экспериментальное исследование противоишемической и гиполипидемической активности Мексикора / Л.Н. Сернов, Л.Д. Смирнов, Г.И. Шапошникова [и др.] // Клинические исследования лекарственных средств в России. - 2004. - №1. - С. 24-28.
 199. Синяков, А.Ф. Фитотерапия против рака /А.Ф. Синяков. - М.: Сов. спорт, 1997. - 447 с.
 200. Сирота, Т.В. Способ определения антиоксидантной активности супероксиддисмутазы и химических соединений / Т.В. Сирота. - Заявка №99103192 (003673), приоритет от 24.02.1999.
 201. Скальный, А.В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение)/ А.В. Скальный. - М.: изд.КМК, 2001. - 96 с.
 202. Скальный, А.В. Микроэлементозы человека: гигиеническая диагностика и коррекция / А.В. Скальный // Микроэлементы в медицине. - 2000.- №1. - С.2-8.
 203. Скворцова, В.И. Вторичная профилактика инсульта / В.И. Скворцова, И.Е. Чазова, Л.В. Стаховская. - М., 2002. - 118 с.

204. Скворцова, В.И. Церебральная ишемия и нейропротекция / В.И. Скворцова, Н.В. Ефремова, Н.А. Шамалов [и др.]. // Журн. медицина. Инсульт. - М., 2006. - №2 (13). - С. 35-42.
205. Средство, обладающее анксиолитическим действием: патент № 2394588 Рос. Федерация / Батухтин А.В., Шилова И.В., Суслов Н.И.; заявитель и патентообладатель Государственное учреждение Научно-исследовательский институт фармакологии Томского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук (ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН), Батухтин А.В., Шилова И.В., Суслов Н.И. - № 2008148374/15; заяв. 08.12.2008, опубл 20.07.2010., бюл. № 12.
206. Соболева, В. А. Выделение комплекса полисахаридов каштана конского и изучение его химического состава / В.А. Соболева, В.Н. Чушенко, А.А. Коломиец, О.С. Данькевич // Провизор. - 2009. - №16. - С.21-24.
207. Соколов, С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: руководство для врачей / С.Я. Соколов. - М.: Медицинское информационное агентство, 2000.- 976 с.
208. Сокольников, И.Г. Влияние некоторых биофлавоноидов на неферментативную антиокислительную защиту организма / И.Г. Сокольников, В.К. Кухта, Т.С. Морозкина [и др.] // Здравоохранение Белоруссии. - 1992. - №2. - С. 47-49.
209. Сорокина, А.А. Теоретическое и экспериментальное обоснование стандартизации настоев, отваров и сухих экстрактов из лекарственного растительного сырья: автореф. дис.... доктора фарм.н.: 15.00.02 / Сорокина Алла Анатольевна. - Москва, 2002. - 41 с.
210. Стаховская, Л.В. Эпидемиология инсульта в России по результатам территориально-популяционного регистра (2009-2010) / Л.В. Стаховская, О.А. Ключихина, М.Д. Богатырева, В.В. Коваленко // Журнал неврологии и психиатрии. - 2013. - № 5. - С.4-10.

211. Степаненко, Б. Н. Химия и биохимия углеводов (полисахариды) / Б.Н. Степаненко. — М.: Высш. школа, 1978.- 256 с.
212. Степанова, Э.Ф. Использование экспресс-методов оценки биологической активности на культуре клеток при разработке фитопрепаратов адаптогенного действия / Э.Ф. Степанова, И.Н. Андреева, М.А. Огай [и др.] // Фармация на современном этапе - проблемы и достижения: научные труды НИИФ. - Москва, 2000. - Т. XXXIX, ч. 1. - С. 299-302.
213. Суслина, З.А. Антитромбическая терапия в ангионеврологии / З.А. Суслина, М.М. Танащян. - Москва: Медицинская книга, 2004. - 110 с.
214. Сухомлинов, Ю.А. Исследование влияния дигидрокверцетина и настоя цветков лабазника шестилепестного на функциональное состояние миокарда крыс в условиях моделирования эмоционально-иммобилизационного стресса / Ю.А. Сухомлинов, М.В. Покровский, А.И. Конопля // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. — 2005. — № 2. — С.209-213.
215. Танащян, М.М. Антиагрегантная активность сосудистой стенки в остром периоде ишемического инсульта / М.М. Танащян, З.А. Суслина, В.Г. Ионова // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2001. - №1. - С. 10-16.
216. Тараховский, Ю.С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю.С. Тараховский, Ю.А. Ким, Б.С. Абдрасилов, Е.Н. Музафаров. - Пушкино: Synchrobook, 2013. — 310 с.
217. Тенцова, А.И. Руководство к практическим занятиям по заводской технологии лекарственных форм / А.И. Тенцова. - М.: Медицина, 1986. - 259 с.
218. Терещенко, Т.Н. Сравнительная оценка методов количественного определения суммы флавоноидов в сырье и препаратов арники / Т.Н. Терещенко, Л.В. Акашкина, З.П. Костенникова // Проблемы стандартизации и контроля качества лек. средств. - М., 1991. - Т. 2, ч. 2. - С. 22-23.
219. Точкова, Т.В. Спектрофотометрический метод количественного определения суммы флавоноидов в цветках липы / Т.В. Точкова, В.Н. Бубенчи-

- кова // Ресурсоведческое и фитохимическое изучение лекарственной флоры СССР: научные труды ВНИИФ. - Москва, 1991. - Т.29. - С.150-155.
220. Трофимова, С.В. Изучение антиаритмической активности листьев *Crataegus sanguinea* (Rosaceae) / С.В. Трофимова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина [и др.]. // Медицинский вестник Башкортостана. - 2011. - Т.6, № 2. - С. 299 - 302.
221. Трофимова, С.В. Определение флавоноидного состава листьев боярышника кроваво-красного *Crataegus sanguinea* Pall. из флоры Республики Башкортостан методом ВЭЖХ / С.В. Трофимова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина [и др.]. // Современная медицина и фармацевтика: анализ и перспективы развития: материалы VIII Международной научно-практической конференции. - М.: Изд. «Спутник+», 2013. - С.27-29.
222. Тюкавкина, Н.А. К вопросу методологии стандартизации жидких спиртосодержащих многокомпонентных фитопрепаратов / Н.А. Тюкавкина, И.А. Самылина, В.Л. Багирова [и др.] // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов растительного происхождения: матер. I Межд. съезда. - Выборг, 1997. - С. 71-85.
223. Тюкавкина, Н.А. Сопоставительное изучение химического состава фитопрепарата и его растительных источников как основа стандартизации спиртосодержащих лекарственных форм / Н.А. Тюкавкина, Ю.А. Колесник, И.А. Селиванова [и др.] // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы III Межд. Съезда. - С.-Петербург - Пушкин, 1999. - С. 159-171.
224. Ушкалова, Е.А. Аспиринорезистентность: механизмы развития, методы определения и клиническое значение / Е.А. Ушкалова // Фарматека. - 2006. - №13. - С.35-41.
225. Фархутдинов, Р.Г. Определение содержания йода в растениях Республики Башкортостан / Р.Г. Фархутдинов, Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова [и др.] // Растительные ресурсы. - 2013. - Т.49, №1. - С.139-146.

226. Федеральный закон от 21 ноября 2011 года №323-ФЗ «Об охране здоровья граждан в Российской Федерации».
227. Федин, А.И. Интенсивная терапия ишемического инсульта / А.И. Федин, С.А. Румянцева. - М.: Медицинская книга, 2004. - 284 с.
228. Фролова, Н.Ю. Сравнительная оценка болеутоляющего действия ряда новых средств растительного происхождения / Н.Ю. Фролова, Т.И. Меньшикова, М.Е. Дьякова [и др.] //Тез. докл. 2-й конф. Росс. ассоциации по изучению боли. - СПб., 1995. - С. 186-188.
229. Фролькис, В. В. Экспериментальные пути продления жизни / В.В. Фролькис, Х.К. Мурадян. - Л.: Наука, 1988. - 248 с.
230. ФС 42-134-72 Листья земляники лесной.
231. ФС 42-2094-83 Трава полыни обыкновенной.
232. ФС 85-308-5 Плоды аронии черноплодной.
233. ФС 96-282-10 Трава мелиссы лекарственной.
234. ФСП 42-0330168301 Трава донника.
235. Хайс, И.М. Хроматография на бумаге / Под ред. И.М. Хайс, К.М. Мацек. - М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1962. - 851 с.
236. Харборн, Дж. Б. Фенольные соединения Хроматография: практическое приложение метода / Дж.Б. Харборн. - М.: 1986. - С. 242-276.
237. Хасанова, С.Р. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в растительном сборе «Кардиофит» / С.Р. Хасанова, А.П. Потанина, Н.В. Кудашкина // Башкирский химический журнал. - 2013. - Т.20, № 3. -С. 84-86.
238. Хасанова, С.Р. Изучение антиагрегантных свойств растительного сбора «Кардиофит» / С.Р. Хасанова, А.П. Потанина, Н.В. Кудашкина и [др.]// Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2009. - № 8 (6). - С. 377-378.
239. Хасанова, С.Р. Изучение кардиопротективных свойств листьев боярышника кроваво-красного и сбора «Кардиофит» / С.Р. Хасанова, С.В. Тро-

- фимова, А.П. Потанина [и др.]. // Медицинский вестник Башкортостана. - 2012. - Т.7, № 5. - С. 112-114.
240. Хасанова, С.Р. Изучение качественного состава липофильной фракции листьев боярышника кроваво-красного / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина // Традиционная медицина. – 2015. – Т.41, № 2. – С.53-55.
241. Хасанова, С.Р. Изучение фармакологических свойств растительного сбора «Кардиофит» / С.Р.Хасанова, А.П. Потанина, Н.В.Кудашкина [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. - 2014. - Т.9, № 6. - С. 73-76.
242. Хасанова, С.Р. Исследование аминокислотного состава некоторых дикорастущих растений из флоры Республики Башкортостан / С.Р.Хасанова, Н.В.Кудашкина, С.В. Трофимова [и др.]. // Башкирский химический журнал. - 2013. - Т.20, №1. - С. 108-110.
243. Хасанова, С.Р. Исследование антиоксидантной активности листьев боярышника кроваво-красного методом хемилюминесценции / С.Р. Хасанова, С.В. Трофимова, Н.В. Кудашкина, Р.Р. Фархутдинов, М.И. Штанько // Традиционная медицина. - 2012. - №5. - С. 316 - 317.
244. Хасанова, С.Р. Компонентный состав полисахаридного комплекса листьев *Crataegus sanguinea* (Rosaceae) из флоры Республики Башкортостан / С.Р. Хасанова, Н.В.Кудашкина, М.В. Белоусов и [др.] // Растительные ресурсы. – 2015. – Т.51, № 3. – С.397-406.
245. Хасанова, С.Р. Определение содержания йода в некоторых дикорастущих и культивируемых лекарственных растениях Республики Башкортостан и в сборах / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина С.В. Трофимова [и др.]// Традиционная медицина. - 2011. - №5. - С. 294 - 297.
246. Хасанова, С.Р. Особенности приготовления водного извлечения из сбора «Кардиофит» / Хасанова С.Р., Кудашкина Н.В., А.П. Потанина // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. - 2011. - № 5. - С. 6-8.

247. Хасанова, С.Р. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в растительном сборе «Кардиофит» / С.Р. Хасанова, А.П. Потанина, Н.В. Кудашкина // Башкирский химический журнал. - 2013. - Т 20, № 3. - С. 60-62.
248. Хасанова, С.Р. Разработка методов стандартизации жидкого экстракта на основе сбора для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообращения /С.Р. Хасанова, Э.Х. Галияхметова, Н.В. Кудашкина //Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - №3. - 2012. - С. 35-37.
249. Хасанова, С.Р. Сравнительное изучение антиоксидантной активности растительных сборов / С.Р. Хасанова, Т.И. Плеханова, Э.Х. Галияхметова и [др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Секция «Химия. Биология. Фармация». - 2007. - Вып.1. - С.163 - 166.
250. Хасанова, С.Р. Фармакогностическое изучение сборов для лечения нейроциркуляторных дистоний: дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Хасанова Светлана Рашитовна. - Пермь, 2000. - 163 с.
251. Хасанова, С.Р. Фитотерапия артериальной гипертензии. Библиотека практикующего врача: монография / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, К.А. Пупыкина [и др.]. - Уфа, Изд. «Травы Башкирии», 2010.- 93 с.
252. Хаятулла Насрулла Масуди. Влияние экстракта боярышника на мозговое кровообращение и некоторые показатели метаболизма головного мозга: автореф. дис. ... канд. фармац. наук: 14.00.25 / Хаятулла Насрулла Масуди. - Пятигорск, 1995. - 18 с.
253. Хишова, О.М. Количественное определение процианидинов плодов боярышника / О.М. Хишова, Г.Н. Бузук // Химико-фармацевтический журнал. -2006. - Т. 40, №2. - С. 20-21.
254. Хишова, О.М. Сравнительная количественная оценка содержания флавоноидов в растительном сырье боярышника кроваво-красного. / О.М. Хишова, Т.В. Родионова // Вестник фармации. - 2008. - №1 (39). - С.15.

255. Чарный, А. М. Патофизиология гипоксических состояний / А.М. Чарный. - М.: Медгиз, 1961. - 112 с.
256. Чекман, И.С. Способ определения кардиотонической активности биологически активных соединений / И.С. Чекман, Н.А. Горчакова, В.А. Самарский, Т.Г. Стерлева // Экспериментальное (фармакологическое) изучение новых препаратов, предлагаемых для клинических испытаний в качестве кардиотонических средств. - М., 1988. - 5 с.
257. Чистяков, А.Г. Препарат для лечения сердечно-сосудистых заболеваний «Кардиофит» / А.Г. Чистяков // Патент РФ RU2137496.
258. Чуешов, В.И. Промышленная технология лекарств / В.И. Чуешов, Л.Н. Хохлова, П.Д. Пашнев. - Харьков, 2002. - 104 с.
259. Шилова, И.В. Ноотропные свойства экстракта наземной части лабазника обыкновенного / И.В. Шилова, Н.И. Суслов // Вестник фармации (Беларусь). - 2014. - Т.64, № 2. - С.84-89.
260. Шматков, Д.А. Определение суммы фенолкарбоновых кислот в корнях лопуха большого (*Arctium lappa* L.) / Д.А. Шматко, Д.М. Попов // Фармация на современном этапе - проблемы и достижения: научные труды ВНИИФ. - М., 2000. - Т. XXXIX, ч. 2. - С. 174.
261. Якушенко, В.А. Разработка и исследование комбинированного препарата с экстрактом окопника для лечения гнойно-воспалительного процесса: автореф. дис... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Якушенко Виктория Анатольевна. - Москва, 1996. - 24 с.
262. Аминокислоты [Электронный ресурс]. - URL: <http://www.xumuk.ru/encyklopedia/218.html>. - Загл. с экрана.
263. Анализ заболеваемости населения Республики Башкортостан алиментарно-зависимыми заболеваниями в 2009-2013 годах [Электронный ресурс]. - URL: <http://www.roszdravnadzor.ru/> - Загл. с экрана.
264. Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс]. - URL: <http://www.who.int.ru> - Загл. с экрана.

265. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс] / М-во здравоохранения и соц. развития РФ - URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. - Загл. с экрана.
266. Демография: Федеральная служба государственной статистики [Электронный ресурс]. - URL: <http://www.gks.ru> - Загл. с экрана.
267. Фитотерапия в комплементарной медицине России. Корсун В.Ф., Куркин В.А., Корсун Е.В [Электронный ресурс]. - URL: <http://www.fitokor.ru> - Загл. с экрана.
268. Химическая наука и образование в России [Электронный ресурс]. - URL: <http://www.chem.msu.su>. - Загл. с экрана.
269. Электронный справочник лекарственных средств «Видаль» [Электронный ресурс]. - URL: <http://www.vidal.ru>. - Загл. с экрана.
270. Энциклопедия лекарств [Электронный ресурс]. - URL: <http://www.rlsnet.ru> - Загл. с экрана.
271. «Dying too young», World Bank report, 2005.
272. Ahlemeyer, B. Neuroprotective effects of NV-31, a bilobilide-derived compound: evidence for an antioxidative mechanism / B. Ahlemeyer, V. Yunker, R. Huhne, Kueglstein // Brain Res. - 2001. - Vol. 890. - №2. - P. 338-342.
273. Akhondzadeh, S. *Melissa officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomised, placebo controlled trial / S. Akhondzadeh [et al.] // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. - 2003. - Vol. 74, № 7. - P. 863-866.
274. Arora, A. Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system / A. Arora, M.G. Nair, G.M. Strasburg // Free. radic. biol. med. - 1998. - Vol. 24, №9. - P.1355-1363.
275. Astrup, J. Stroke / J. Astrup, B.K. Siesjo, L. Symon. - 1981. - Vol. 12. - P. 723-725.
276. Barros, L. Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from Northeastern Portugal / L. Barros, M. Dueñas, A.M. Carvalho,

- I.C. Ferreira, C. Santos-Buelga // Food Chem Toxicol. – 2012ю - 50(5). P. 1576-1582.
277. Beek, T.A. Chemical analysis of Ginkgo biloba leaves and extracts / T.A. Beek // J. of Chromatography A. - 2002. - № 967. - P.21-35.
278. Bergeron, J. Aortic stenosis. Clinical manifestations and course of the disease. Review of one hundred proved cases / J. Bergeron, W.H. Abelmann, H. Varzquez-Milan et al. // Arch. Intern. Med. - 1999. - Vol. 94 - P. 911-924.
279. Billet, R. Verdampfung und ihre technische Anwendung / R. Billet. Florida: Verlag Chemi, 1981.-241 p.
280. Bitter T., Muir H.M. A modified uronic acid carbazole reaction // Anal. Biochem. - 1962. - Vol. 4. - P. 330-334.
281. Blesken, R. Crataegus in cardiology / R. Blesken // Fortschr Med. - 1992.- 110(15).
282. Born, G.V.R. / J. Physiol. (Lond.) // G.V.R. Born, M.J. Gross. - 1963. - Vol. 168. - P. 178.
283. Born, G.V.R. / Nature. - 1962. - Vol. 194. - P. 927.
284. Bors, W. Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies / W. Bors, W. Heller, C. Michel, M. Saran // Methods Enzymol.- 1990.- Vol. 186.- P. 343-355.
285. Braun, R. Standardzulassungen für Fertigarzneimittel. Text and Kommentar. / R.Braun. - Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1997.
286. British Pharmacopeia 2009 / British Pharmacopoeia Commission. - London: Crown Copyright. - 2009. - 10952 p.
287. Çalışkan, O. Phytochemical characterization of several hawthorn (*Crataegus* spp.) species sampled from the Eastern Mediterranean region of Turkey / O. Çalışkan, K. Gündüz, S. Serçe, C. Toplu, O. Kamiloğlu, M. Sengül, S. Ercişli // Pharmacogn Mag. – 2012. - 8(29). P.16-21.
288. Cao, G. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships / G. Cao, E. Sofic, R.L. Prior // Free Radic. Biol. Med.- 1997.- Vol. 22. - P.749-760.

289. Chen, L. Identification of volatile compounds of hawthorn by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) / L. Chen [et al.] // Se Pu. - 1997. - 15(3). - P. 219-210.
290. Chen, W. Myricetin affords protection against peroxynitrite-mediated DNA damage and hydroxyl radical formation / W. Chen [et al.] // Food Chem. Toxicol. - 2011. - 49. - P. 2439-2444.
291. Chiruta, C. Chemical modification of the multitarget neuroprotective compound fisetin / C. Chiruta [et al.] // J.Med.Chem. – 2012. – 55. – P.378-389.
292. Chisolm, G.M. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview / G.M. Chisolm, D.Steinberg // Free Radic Biol Med.- 2000.- Vol. 28(12).- P.1815-1826.
293. Clark, W.L. Efficacy of antioxidant therapies in transient local ischemia in mice / W.L. Clark, L.Y. Rinker, N.S. Lesov [et al.] // Stroke: a journal of cerebral circulation [stroke] 2001. - Vol. 32. - №4. - P. 1000-1004.
294. Collaborative meta-analysis of randomized trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. - BMJ, 2002. - 324. - P. 71-86.
295. Cos P., Muzino T., Becker T. // Planta Med., 2001. – V.67. – P.515-519.
296. Cui,T. Quantification of the polyphenols and triterpene acids in chinese hawthorn fruit by high-performance liquid chromatography / T. Cui , J.Z. Li , H. Kayahara, L. Ma, L.X. Wu, K. Nakamura // J Agric Food Chem. – 2006. - 54(13). P. 4574-4581.
297. Dauguet, Jean-Claude. 8-Methoxykaempferol 3-neohesperidoside and other flavonoids from bee pollen of *Crataegus monogyna* / Jean-Claude Dauguet [et al.] // Phytochemistry. - 1993. - Vol.33 (6). - P. 1503-1505.
298. Decker, E.A. Phenolics: prooxidants or antioxidants / E.A. Decker // Nutr. Rev.- 1997.- Vol. 55.- P. 396-407.
299. Dodel, R.C. Resource Utilization and Costs of Stroke Unit Care in Germany/ R.C. Dodel, C. Haacke, K. Zamzow, S. Pawelzik, A. Spottke, M. Rethfeldt et al.. // Value health. - 2004. - Vol. №2(7).- P.144-152.

300. Elango, C. Immunomodulatory effect of Hawthorn extract in an experimental stroke model / C. Elango, S.N. Devaraj // *J Neuroinflammation*. – 2010. – 30. P. 7-97.
301. Epstein, D. The hospital cost of care for stroke in nine European countries / D. Epstein, A. Mason, A. Manca // *Health Economics*. - 2008. - (17 Suppl. 1). - P.21-31.
302. European Pharmacopeia 6.0 / European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. - 2008. - P. 2035-2038.
303. Evers, S.M. Economic evaluation in stroke research: A systematic review / S.M. Evers, A.J. Ament, G. Blaauw // *Stroke*, 2000. - 5(31). - P. 1046-1053.
304. Goldberg, R.B. Cardiovascular events and their reduction with pravastatin in diabetic and glucose-intolerant myocardial infarction survivors with average cholesterol levels: subgroup analyses in the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) / R.B. Goldberg, M.J. Mellies, F.M. Sacks et al. // *Trial. Circulation*. - 1998. - 98. - P. 2513-2519.
305. Griffiths, D.W. A comparison of the composition of epicuticular wax from red raspberry (*Rubus idaeus* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) flowers / D.W. Griffiths [et al.] // *Phytochemistry*. - 2000. - Vol. 55(2). - P. 111-116.
306. Gundermann, K.J. Efficacy of a herbal preparation in patients with functional dyspepsia: A meta-analysis of double-blind, randomized, clinical trials / K.J. Gundermann [et al.] // *Advances in Therapy*. - 2003. - № 1. - P. 43.
307. Hacke, W. Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke./ W. Hacke, M. Kaste, E. Bluhmki, M. Brozman, A. Dávalos, D. Guidetti et al.// *N. Engl. J. Med.*- 2008. - 359 (13). - P. 1317- 1329.
308. Han, N.R. Hyperoside regulates the level of thymic stromal lymphopoietin through intracellular calcium signaling / N.R. Han , J.H. Go, H.M. Kim, H.J. Jeong // *Phytother Res.*. – 2014. -28(7). – P. 1077-1081.

309. Hanack, T. The treatment of mild stable forms of angina pectoris using Crataegutt novo / T. Hanack, M.H. Breckel // Therapiewoche. – 1983. -Vol. 33. – P. 4331-4333.
310. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial.
311. Hertog, M.G. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease / M.G. Hertog, E.J. Feskens, P.S. Hollman et al. // The Zutphen Elderly Study, Lancet. – 1993. – 342. – P. 1007-1011.
312. Hodis, H.N. Serial coronary angiographic evidence that antioxidant vitamin intake reduce progression of coronary artery atherosclerosis / H.N. Hodis, W.J. Mack, L. La Bree et al.// JAMA - 1995. - 273. - P. 1849-1854.
313. Hu, B. Protective effects of Ginkgo biloba extract on rats during cerebral ischemia reperfusion / B. Hu, S. Sun, G. Mei [et al.] // Clin. Med. G. - 2002. - Vol. 115. - №9. - P. 1316-1320.
314. Inoue, T. Antiallergic effect of flavonoid glycosides from *Mentha piperita* L. / T. Inoue, Y. Sigimota, H. Masuda, C. Kamei // Biol. pharm. bull. - Vol. 25, №2. - P. 256-259.
315. Jakstas, V. Research of the amounts of flavonoids accumulated in the crude drug of single-styled hawthorn / Jakstas V. [et al.] // Medicina (Kaunas). - 2003. - № 39(2). - P.45-49.
316. Jakstas, V. Research of the amounts of flavonoids accumulated in the buds of single-styled hawthorn / Jakstas V. [et al.] // Medicina (Kaunas). - 2004. - № 40(8). - P.750-752.
317. Jonsson, B. Measurement of health outcome and associated costs in cardiovascular disease / B. Jonsson // Eur Heart J. - 1996. - 17(Suppl.A). - P. 2-7.
318. Jurikova, T. Polyphenolic profile and biological activity of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* BUNGE) fruits / T. Jurikova, J. Sochor, O. Rop, J. Mlcek, S. Balla, L. Szekeres, V. Adam, R. Kizek // Molecules. – 2012/ - 17(12). P. 14490-14509.

319. Kennedy, D.O. Attenuation of laboratory-induced stress in humans after acute administration of *Melissa officinalis* (Lemon Balm) / D.O. Kennedy [et al.] // Psychosom. Med. - 2004. - Vol. 66, № 4. - P. 607-613.
320. Kennedy, D.O. Modulation of mood and cognitive performance following acute administration of single doses of *Melissa officinalis* (Lemon Balm) / D.O. Kennedy [et al.] // Pharmacol. Biochem. Behav. - 2002. - № 72. - P. 953-964.
321. Kim, S.H. Procyanidins in *Crataegus* extract evoke endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta / S.H. Kim, K.W. Kang, K.W. Kim, N.D. Kim // Life Sci. – 2000. - 67(2). P. 121-131.
322. Kim, S.J. Anti-inflammatory activity of hyperoside through the suppression of nuclear factor- κ B activation in mouse peritoneal macrophages / S.J. Kim, J.Y. Um, J.Y. Lee // Am J Chin Med. – 2011. - 39(1). P. 171-181.
323. Kuller, L.H. A time to stop prescribing antioxidant vitamin to prevent and treat heart disease? / L.H. Kuller // Arterioscler Thromb Vase Biol. - 2001. - 21. - P. 1253.
324. Leuchtgens, H. Crataegus special extract WS 1442 in NYHA II heart failure. A placebo controlled randomized double-blind study / H. Leuchtgens // Fortschr Med. - 1993. -111(2021). - P. 352-354.
325. Levy, A.P. The Effect of Vitamin Therapy on the Progression of Coronary Artery Atherosclerosis Varies by Haptoglobin Type in Postmenopausal Women / A.P. Levy, P. Friedenber, R. Lotan et at. // Diabetes Care.- 2004.- Vol. 27.- P. 925-930.
326. Li, T.P. Effects of pectin pentaoligosaccharide from Hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bunge. var. Major) on the activity and mRNA levels of enzymes involved in fatty acid oxidation in the liver of mice fed a high-fat diet / T.P. Li, R.G. Zhu, Y.P. Dong, Y.H. Liu, S.H. Li, G. Chen // J Agric Food Chem. - 2013. - 61(31). P. 7599-7605.

327. Lies, E.J. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants / E.J. Lies, S. Ren, H.H. Bui, R. Wang // Free. radic. biol. med. - 1999. - Vol. 26, №3-4. - P. 285-294.
328. Lipman, H. Alcohol consumption and public health in Russia / H. Lipman// The Lancet. - 2007. - Vol.370. - P. 561-562.
329. Liu, R.H. Study on the chemical constituents of the leaves from *Crataegus pinnatifida* Bge. var. major N. E. Br / R.H. Liu, B.Y. Yu // Zhong Yao Cai. - 2006. - 29(11). – P. 1169-1173.
330. Lopenz - Lazaro, M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin // Mini. Rev. Med. Chem. - 2009. - Vol. 2. - P. 31-59.
331. Lopenz - Lazaro, M. Flavonoids as anticancer agents: structure - activity relationship study / M. Lopenz - Lazaro, M. Akiyama // Curr. med. chem. anti - canc agants. - 2000. - Vol. 2, №6. - P. 691-714.
332. Luís, A. Bioactive compounds, RP-HPLC analysis of phenolics, and antioxidant activity of some Portuguese shrub species extracts / A. Luís, F. Domingues, A.P. Duarte // Nat Prod Commun. – 2011. - 6(12). – P.1863-1872.
333. Maher, P. Modulation of multiple pathways involved in the maintenance of neuronal function during aging by fisetin / P. Maher //Genes Nutr. – 2009. – 4. – P.297-307.
334. Man H.H., Bishoff F.A., Bochum D.S., Kroonig G.F. // Phytochemistry. – 2002. - № 6. – P.487-491.
335. Massaro, M. The omega-3 fatty acid docosahexaenoate attenuates endothelial cyclooxygenase-2 induction through both NADP(H) oxidase and PKCepsilon inhibition / M. Massaro [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2006. – 103. – P.15184-15189.
336. Mehta, S. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study / S. Mehta, S. Yusuf, R. Peters et al. // Lancet. - 2001. - 358. - P.527.

337. Melikoglu, G. Flavonoids of *Crataegus stevenii* / G. Melikoglu, A.H. Mericli // Pharmazei. - 2000. - Vol.55. - N4. - P. 326-327.
338. Mericli, A.H. Flavonoids of *Crataegus tanacetifolia* (Lam.) Pers. (Rosaceae), an epidemic species from Turkey / A.H Mericli, K. Ergezen // Sci. Pharm. - 1994. - Vol.62. - N3. - P. 277-281.
339. Meyer, F. Lower ischemic heart disease incidence and mortality among vitamin supplement users / F. Meyer, Г. Baitrati, G.R. Dagenais // Can J Cardiol. - 1996. - N12. - P. 930-934.
340. Mina, K. Hawthorn leaf with flower / Mina K., Chung // Cardiology in Review. - 2004. - Vol.12 (2). - P. 73-80.
341. Moxon, R.D. Analyst / R.D. Moxon, E.J. Dixon. - 1980. - Vol.105. - P. 344-352.
342. Mrugasievitcz, K. Badanie swiazkow flawonoidowych w lisciach niektorych gatunkow glogu // Biul. Inst. Rosl. Leczniczych. - 1963. - T.9, N 1-2. - P. 1-11.
343. Nandakumar, N. Hesperidin protects renal and hepatic tissues against free radical-mediated oxidative stress during DMBA-induced experimental breast cancer / N. Nandakumar, M.R. Balasubramanian // J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. – 2011. – 30. – P.283-300.
344. Nikolov, N. New flavonoid-glycosides from *Crataegus monogyna* and *Crataegus pentagyna* / N. Nikolov, O. Seligmann, H. Wagner, R.M. Horowitz, B. Gentili // Planta Med. – 1982. - 44(1). P. 50-53.
345. Niu Yu-Hong. Protective effects of Ginkgo biloba extract on cultured rat cardiomyocytes damaged by H₂O₂ / Yu-Hong, Xue-Yi Yang, Wei-Sheng Bao // Acta Pharmacol. Sin. - 1999. - Vol. 20. - №7. - P. 635-638.
346. O'Brien, J.R. / J. clin. Path. - 1962. - Vol. 15. - P. 452.
347. O'Brien, J.R. / Trombos. Diathes. Laemorrh. (Stuttg.) // J.R. O'Brien, J. B. Heywood. - 1966. - Vol. 16. - P. 752.
348. Parmar, N.S. Current trends in flavonoid research / N.S. Parmar, M.N. Ghosh // Ind. J. Pharmac. - 1980. - Vol. 12, №4. - P. 213-228.

349. Prinz, S. 4'''-Acetylvitexin-2''-O-rhamnoside, isoorientin, orientin, and 8-methoxykaempferol-3-O-glucoside as markers for the differentiation of *Crataegus monogyna* and *Crataegus pentagyna* from *Crataegus laevigata* (Rosaceae) / S. Prinz, A. Ringl, A. Huefner, E. Pemp, B. Kopp // Chem Biodivers. – 2007. - 4(12). – P. 2920-2931.
350. Porter, L. J. Phytochemistry / L. J. Porter, L. N. Hrstich, B. G. Chan.- 1986. - P. 223-230.
351. Rabiei, Kh. Antioxidant activity of polyphenol and ultrasonic extracts from fruits of *Crataegus pentagyna* subsp. *Elburensis* / Kh. Rabiei, S. Bekhradnia, S.M. Nabavi, S.F. Nabavi, M.A. Ebrahimzadeh // Nat Prod Res. – 2012. - 26(24). – P. 2353-2357.
352. Reuter, H. *Crataegus* (Hawthorn): a botanical cardiac agent / H. Reuter // Z Phytother. - 1994.- 15. - P.7381.
353. Rice-Evans, C.A. Flavonoid antioxidants / C.A. Rice-Evans // Curr. med. chem. - 2001. - Vol. 8, №7. - P. 797-807.
354. Rice-Evans, C.A. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids / C.A. Rice-Evans, N.J. Miller, G. Pa-ganga // Free radic biol. med. - 1996. - Vol. 20, №7. - P. 933-956.
355. Sahu, S.C. Lipid peroxidation and DNA damage induced by morin and naringenin in isolated rat liver nuclei / S.C. Sahu, G.C. Gray // Food Chem. Toxicol. - 1997.- Vol. 35.- P. 443-447.
356. Salehi, S Hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) extract exhibits atropine-sensitive activity in a cultured cardiomyocyte assay / S. Salehi, S.R. Long, P.J. Proteau, T.M. Filtz // J Nat Med. – 2009. - 63(1). P. 1-8.
357. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). Lancet. – 1994. – Vol. 344. – P. 1383-1389.
358. Schhultz, V. Rational phytotherapy: a physician's guide to herbal medicine / V. Schhultz [et al.] // New York: Springer-Verlag. - 1998. - P. 306.

359. Shih, C.C. Validation of the Antidiabetic and Hypolipidemic Effects of Hawthorn by Assessment of Gluconeogenesis and Lipogenesis Related Genes and AMP-Activated Protein Kinase Phosphorylation / C.C. Shih, C.H. Lin, Y.J. Lin, J.B. Wu // *Evid Based Complement Alternat Med.* – 2013. – P. 597-607.
360. Sichel, G. In vitro scavenger activity of some flavonoids and melanins against O₂ / G. Sichel, C. Corsaro, M. Scalia et al. // *Free Radic. Biol. Med.* - 1991. - Vol. 11. - P. 1-8.
361. Silambarasan, T. Diosmin, a bioflavonoid reverses alterations in blood pressure, nitric oxide, lipid peroxides and antioxidant status in DOCA-salt induced hypertensive rats / T. Silambarasan, B. Raja // *Eur. J. Pharmacol.* – 2012. – 679. – P. 81-89.
362. Social and lifestyle determinants of depression, anxiety, sleeping disorders and self-evaluated quality of life in Russia. A population based study in Arkhangelsk, Averina M. et al., *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, 40, 200.
363. Steinberg, D. Is the Oxidative Modification Hypothesis Relevant to Human Atherosclerosis? Do the Antioxidant Trials Conducted to Date Refute the Hypothesis? / D. Steinberg, J.L. Witztum // *Circulation.* - 2002. - Vol. 105. - P. 2107-2111.
364. Steinhoff, B. Herbal medicines increasingly preferred / B. Steinhoff // *Pharmazeutische -Zeitung.* - № 142 (49). – P. 4412-4417.
365. Stumpfer, M.J. Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women / M.J. Stumpfer, C.H. Hennekens, J.E. Manson et al. // *N Engl J Med.* - 1993. - 328. P. 1444-1449.
366. Svedström, Ulla. Isolation and identification of oligomeric procyanidins from *Crataegus* leaves and flowers / Ulla Svedström [et al.] // *Phytochemistry.* - 2002. - № 60. - P. 821-825.
367. Svedström, Ulla. High-performance liquid chromatographic determination of oligomeric procyanidins from dimers up to the hexamer in hawthorn / Ulla Svedström [et al.] // *Journal of Chromatography A.* - 2002. - 968. - P. 53-60.

368. Sun, B. Isorhamnetin inhibits H₂O₂-induced activation of the intrinsic apoptotic pathway in H9c2 cardiomyocytes through scavenging reactive oxygen species and ERK inactivation / B. Sun [et al.] // J. Cell Biochem. – 2012. – 113. – P. 473-485.
369. Tauchert, M. Effectiveness of hawthorn extract LI 132 compared with the ACE inhibitor Captopril: Multicenter double-blind study with 132 NYHA Stage II / M. Tauchert, M. Ploch, W.D. Hubner // Muench Med Wochenschr 136 suppl. 1994. - P. 27-33.
370. Tadić, V.M. Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical-scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract / V.M. Tadić, S. Dobrić, G.M. Marković, S.M. Dordević, I.A. Arsić, N.R. Menković, T. Stević // J Agric Food Chem. – 2008. - 56(17). P. 7700-7709.
371. Tinkel, J. Cardiovascular Antioxidant Therapy: A Review of Supplements, Pharmacotherapies, and Mechanisms / J. Tinkel, H. Hassanain, S. Khouri // Cardiology in Review. - 2012. - 20. - P. 77-83.
372. United States Pharmacopoeia (USP 32 - NF 27). - 2009.
373. Vladimirov, Y.A. Dihydroquercetin (taxifolin) and other flavonoids as inhibitors of free radical formation at key stages of apoptosis / Y.A. Vladimirov [et al.] // Biochemistry (Mosc.). – 2009. – 74. – P. 301-307.
374. Wang, T. Regulation effects of *Crataegus pinnatifida* leaf on glucose and lipids metabolism / T. Wang, Y. An, C. Zhao, L. Han, M. Boakye-Yiadom, W. Wang, Y. Zhang // J Agric Food Chem. – 2011. - 59(9). - P. 4987-4994.
375. Wang, X. A highly sensitive and robust UPLC-MS with electrospray ionization method for quantitation of taxifolin in rat plasma/ X. Wang [et al.] // J Chromatogr. B Analit. Technol. Biomed. Life Sci – 2009. - 877. - P. 1778-1786.
376. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants - Vol. 2. World Health Organization. Geneva.- 2004. - P. 142-145.
377. Yang, G. Immunopotentiating effect of traditional Chinese drugs- ginsenoside and glycyrrhiza polysaccharide / G. Yang, Y. Yu // Proc. Chin. Acad. Med. Sci. Peking Union Med. Coll.- 1990. - Vol. 5, N 4.- P. 188-193.

378. Zhang, P. Isolation and structural identification of a new flavonoids from leaves of *Crataegus pinnatifida* / P. Zhang, S. Xu // ZhongguoYaowu Huaxue Zazhi. - Vol. 9. - N3. - P.214-215.; Chem. Abstrs. - 1999. - Vol. 132. - N 276627.
379. Zhang, P.C. C-glucoside flavonoids from the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. major N.E.Br./ P.C. Zhang, S.X. Xu // Yao Xue Xue Bao. – 2001. - 36(10). P. 754-757.
380. Zhang, P.C. Chemical constituents from the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. major N.E.Br / P.C. Zhang, S.X. Xu // J Asian Nat Prod Res. – 2003. - 5(2). P.131-136.
381. Zhang, R. Morin (2,3,4,5,7-pentahydroxyflavone) protected cells against gamma-radiation-induced oxidative stress/ R. Zhang [et al.] // Basis Clin. Pharmacol. Toxicol. – 2011. - 108. - P.63-72.
382. Zhao, C.F. Heterogeneity and characterization of mitogenic and anticomplementary pectic polysaccharides from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch et D.C. / C.F. Zhao, H. Kiyohara, H. Yamada et al. // Carboted, hydr.Res. - 1991. - N 219. - P.149-172.
383. Zhou, C.C. Two new compounds from *Crataegus pinnatifida* and their antithrombotic activities / C.C. Zhou, X.X. Huang, P.Y. Gao , F.F. Li , D.M. Li , L.Z. Li , S.J. Song. // J Asian Nat Prod Res. – 2014. - 16(2). P. 169-174.

ПРИЛОЖЕНИЯ

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Директор ЦФиМС ФГБУ
«Научного центра экспертизы средств
медицинского применения» Минздрава России

_____ Е.И. Саканян

"__" _____ 20__ г.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ПРОЕКТ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ

Производитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Заявитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Разработчик: ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России

Боярышника кроваво-красного листа

ФС 42-XXXX-XX

Folia Crataegi sanguineae

Вводится впервые

Срок введения установлен

«__» _____ 20__ года

Срок действия до

«__» _____ 20__ года

Собранные в фазу цветения и высушенные листья дикорастущего многолетнего растения боярышника кроваво-красного – *Crataegus sanguinea* Pall., сем. розоцветных – Rosaceae.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНО

ФС 42- _____ с.2

Показатели качества	Методы испытания	Нормы
1	2	3
<i>Внешние признаки</i>	Визуальный (с помощью микроскопа и лупы), органолептический, ГФ XI	Соответствует ФС
<i>Микроскопия</i>	ГФ XI, вып. 1	Соответствует ФС
<i>Качественные реакции</i>	ТСХ	Соответствует ФС
<i>Числовые показатели:</i> Содержание флавоноидов в пересчете на рутин ДЗП Влажность Золы общей Органическая примесь Минеральная примесь Измельченность: частиц, не проходящих сквозь сито d=5 мм частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм	Дифференциальная спектрофотометрия Микродиагностический ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1	Не менее 1,5 % не менее 30% не более 10% не более 10% не более 1,0% не более 0,5% не более 10% не более 4%
Микробиологическая Чистота	ГФ XII, ст.32	Соответствует категории 4А
Упаковка		Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные; в мешки полипропиленовые из пропилена окрашенного; по 20 кг в мешки тканевые продуктовые.
Маркировка		Соответствует ФС
Транспортирование		
Хранение		В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25°C
Срок годности		3 года
Фармакологическая группа		Антиангинальное средство растительного происхождения

ФС 42- _____ с.3

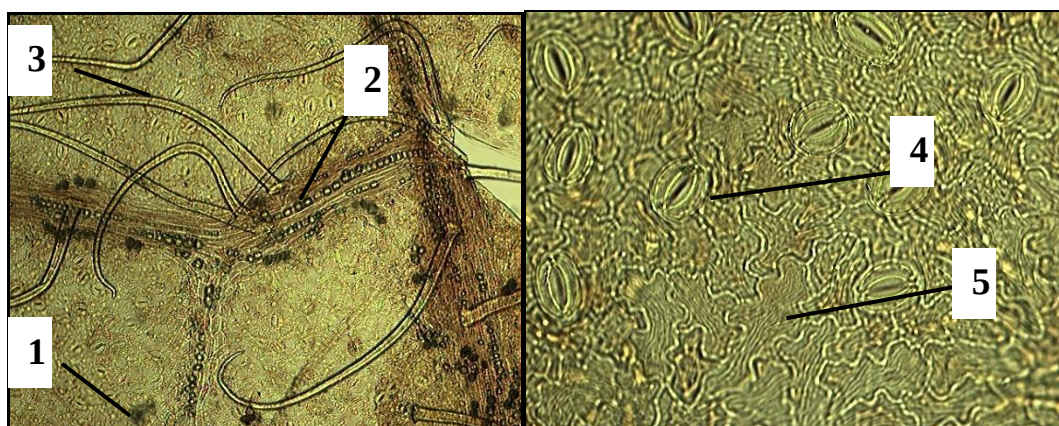
Внешние признаки. *Цельное сырье.* Листья очередные, с прилистниками или без них, простые, короткочерешковые, длиной 2-6 см, шириной 2-8 см, яйцевидные с ширококлиновидным основанием, более или менее глубоко-лопастные с крупнозубчатым краем. Жилкование перисто-краевое. Жилки зеленые, выдаются с нижней стороны листа. Цвет листьев зеленый с верхней стороны и светло-зеленый - с нижней. В месте прикрепления черешка по два прилистника несимметричной серповидной формы, с мелкопильчатым краем, цвет прилистников - зеленый с верхней стороны, и светло-зеленый с нижней. Жилкование прилистников перисто-краевое. Запах слабый. Вкус водного извлечения слабо-горьковатый.

Измельченное сырье. Кусочки листьев различной формы и размера, обломки черешков, прилистников, проходящие сквозь сито размером 5 мм, цвет кусочков листьев зеленый с верхней стороны и светло-зеленый - с нижней. Запах слабый. Вкус водного извлечения слабо-горьковатый.

Микроскопия. *Цельное сырье.* Клетки верхнего эпидермиса - многоугольные, прямостенные, с четковидными утолщениями (рисунок2); нижнего - с извилистыми стенками (рисунок1). Кутикула на обеих сторонах образует складки (рисунок1, 2). Устьица крупные, многочисленные, располагаются на нижней стороне листа, окружены 2-5 околоустьичными клетками (аномоцитный тип) (рисунок1). На обеих сторонах листа встречаются многочисленные волоски - простые одноклеточные, толстостенные, с основанием, погруженным в эпидермис (рисунок1, 2). На нижней стороне листа волоски располагаются преимущественно по жилкам (рисунок1). В месте прикрепления волоска эпидермис образует розетку из 5-7 округлых клеток, окрашенных в бурый цвет (эфирное масло) (рисунок1, 2). Клетки эпидермиса, окружающие розетку клеток также окрашены в бурый цвет. В мезофилле листа и вдоль жилок встречаются крупные друзы и кристаллы оксалата кальция (кубические и цилиндрические) в виде кристаллоносной обкладки жилок (рисунок 1).

ФС 42- _____ с.4

На верхушке листовой пластинки и сегментах – многоклеточные железки с бурым содержимым (рисунок 3). По краю листовой пластинки – редкие простые, длинные, одноклеточные, толстостенные волоски, у основания листа – многочисленные (рисунок 4). Анатомо-диагностические признаки прилистников: клетки верхнего и нижнего эпидермиса - многоугольные, со слабоизвилистой стенкой, с четковидными утолщениями (рисунок11). Кутикула на обеих сторонах образует складки (рисунок9), наиболее интенсивно складки образуются вокруг устьиц (рисунок10). Устьица крупные, многочисленные, располагаются на нижней стороне прилистника небольшими группами, окружены 2-5 околоустьичными клетками (аномоцитный тип) (рисунок10). Редко на верхней стороне прилистников встречаются простые одноклеточные, толстостенные волоски, с основанием, погруженным в эпидермис (рисунок8). В мезофилле прилистника и вдоль жилок встречаются крупные друзы (рисунок8) и кристаллы оксалата кальция (кубические и цилиндрические) в виде кристаллоносной обкладки жилок (рисунок12). На верхушке прилистника и по краю – многочисленные железки (многоклеточная головка на многоклеточной ножке) с бурым содержимым (рисунок5,6). Такие железки очень редко встречаются на поверхности эпидермиса прилистников (рисунок7). Жилки прилистника окрашиваются суданом III в розовый цвет (рисунок12).



Ув. 20×10

Ув. 20×40

Рисунок1. Эпидермис нижней стороны листа боярышника кроваво-красного (1 - друзы оксалата кальция, 2 - кристаллоносная обкладка жилки листа, 3 -

ФС42- _____ с.5

простые одноклеточные волоски, 4 – устьичный аппарат аномоцитного типа,
5 - складчатость кутикулы на нижней стороне листа

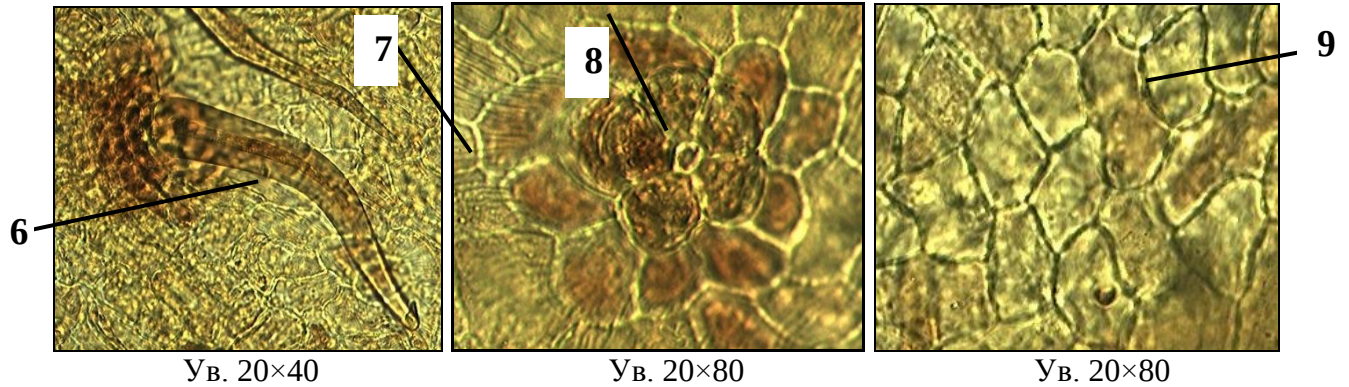


Рисунок2. Эпидермис верхней стороны листа боярышника кроваво-красного (6 - простой одноклеточный волосок, 7 - складчатость кутикулы, 8 - основание волоска, 9 - четковидные утолщения клеточной стенки

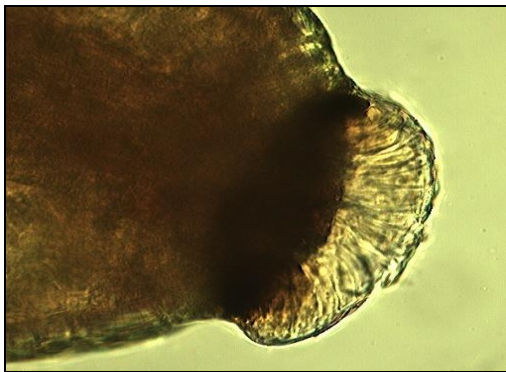


Рисунок3. Многоклеточная железа на вершукке зубца листа

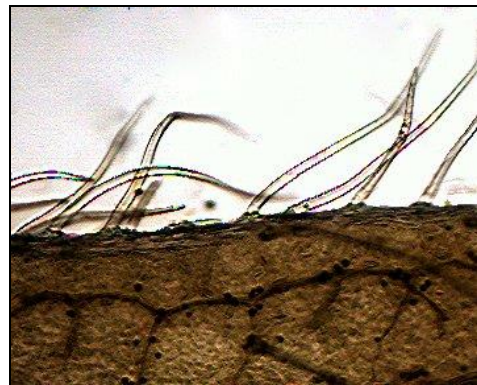


Рисунок4. Край листовой пластинки (в основании листа) боярышника кроваво-красного



Рисунок5. Прилистник листа боярышника кроваво-красного

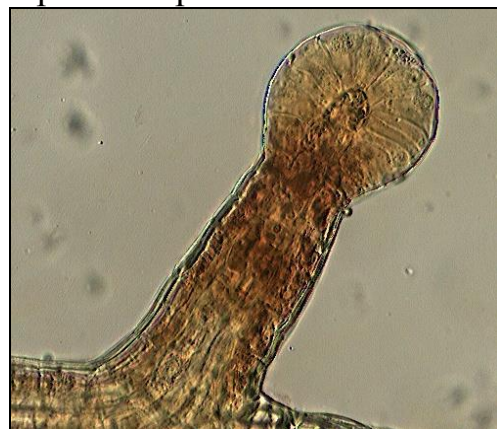


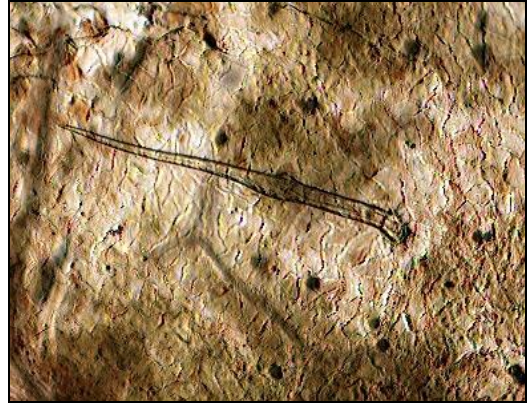
Рисунок6. Железка на краю прилистника (многоклеточная головка на многоклеточной ножке)

ФС 42- _____ с.6



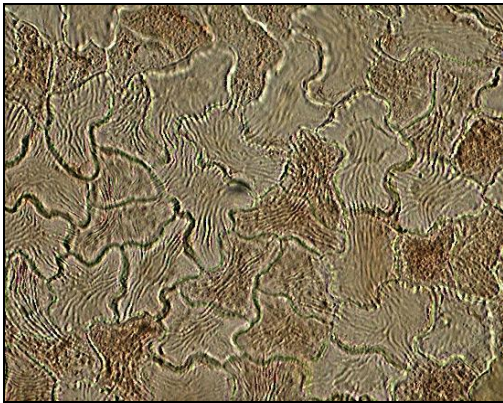
Ув. 20×40

Рисунок 7. Железка на поверхности эпидермиса прилистника



Ув. 20×10

Рисунок 8. Одноклочный простой волосок на верхней стороне прилистника



Ув. 20×40

Рисунок 9. Эпидермис верхней стороны прилистника (складчатость кутикулы)



Ув. 20×80

Рисунок 10. Устьица на нижней стороне прилистника



Ув. 20×80

Рисунок 11. Эпидермис верхней стороны прилистника (четковидные утолщения)



Ув. 20×80

Рисунок 12. Жилка прилистника, окрашенная суданом III (эфирное масло) и кристаллоносная обкладка жилки

ФС 42- _____ с.7

Измельченное сырье. Представляет собой фрагменты эпидермиса верхней и нижней стороны листа, фрагменты жилок листа, сопровождающихся простыми толстостенными одноклеточными волосками (рисунок13), фрагменты края листовой пластинки с простыми одноклеточными волосками по краю (рисунок15), фрагменты верхушки сегментов листа с многоклеточной железкой (рисунок 14), фрагменты эпидермиса с розеткой из 5-7 клеток в основании волоска (рисунок17). Практически на всех фрагментах присутствуют друзы оксалата кальция, чаще всего вдоль жилок листа (рисунок13,15). Тип устьичного аппарата - аномоцитный (рисунок17). Реже встречаются обрывки прилистников, которые можно отличить от обрывков листа по наличию многоклеточных железок с бурым содержимым на многоклеточной ножке по краю прилистника и на поверхности его эпидермиса (рисунок16).



Ув. 20×10



Ув. 20×10

Рисунок13. Фрагменты листа



Ув. 20×10

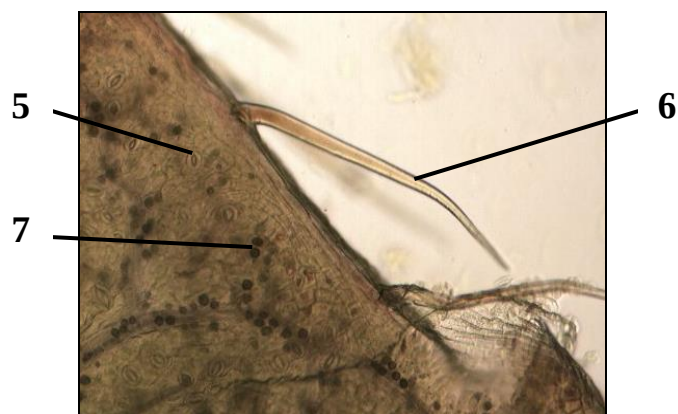


Рисунок14. Фрагменты верхушки сегмента листа

ФС 42- _____ с.8



Ув. 20×10

Рисунок 16. Фрагмент прилистника
листа боярышника кроваво-красного

- 1 – простые одноклеточные волоски,
 2 – устьица,
 3 – друзы оксалата кальция вдоль
 жилки
 4 – многоклеточная железа
 5 – устьица на нижней стороне,
 6 – простые одноклеточные волоски
 по краю
 7 – друзы оксалата кальция
 8 – простой одноклеточный волосок
 9 – железа на поверхности при-
 листника (многоклеточная головка
 на многоклеточной ножке)
 10 – железа по краю прилистника
 11 – складчатость кутикулы
 12 – розетка клеток в основании во-
 лоска



Ув. 20×40

Рисунок 17. Фрагмент эпидермиса нижней стороны листа



Ув. 20×40

ФС 42- _____ с.9

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография. Около 1,0 г сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещают в колбу вместимостью 50 мл, заливают 10 мл 80% этилового спирта и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 20 мкл испытуемого раствора и 5 мкл 0,05% растворов СО рутина, СО гиперозида и СО хлорогеновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей: этилацетат - муравьиная кислота - вода (14:3:3), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворителя и просматривают в УФ-свете. На хроматограмме испытуемого раствора при длине волны 365 нм должны обнаруживаться 3 основные зоны адсорбции на уровне СО рутина бурого цвета, на уровне СО гиперозида бурого цвета и на уровне СО хлорогеновой кислоты голубого цвета. Допускается обнаружение дополнительных зон.

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-муравьиная кислота-вода (14:3:3).

ФС 42- _____ с.10

Система используется свежеприготовленная. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей не менее 1 часа.

4. Приготовление растворов сравнения.

Раствор СО рутина: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца рутина, 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 гиперозида: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца гиперозида, предварительно высушенного при температуре 100-105°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, предварительно высушенного при температуре 100-105°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этиловом спирте 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* - не более 10%.

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

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье* -3%.

Измельченность сырья. *Измельченное сырье* - частиц, не проходящих сквозь сито d=5 мм не более 10%, частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм не более 4%.

Посторонние примеси.

ФС 42- _____ с.11

Цветков и соцветий. Цельное сырье, измельченное сырье - не более 5,0%.

Органическая примесь. Цельное сырье, измельченное сырье - не более 1,0%.

Минеральная примесь. Цельное сырье, измельченное сырье - не более 0,5%.

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

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

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

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

Количественное определение. Цельное сырье, измельченное сырье – содержание флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,5 %.

Приготовление раствора государственного стандартного образца (ГСО) рутина. Около 0,05 г (точная навеска) ГСО рутин (ФС 42-2508-87), высушенного при температуре 130-140°C, растворяют при нагревании на водяной бане в 80 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 3%.

5,4 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.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм. Около 1 г (точная навеска) сырья помещают в колбу термостойкого стекла со шлифом вместимостью 200-250 мл,

ФС 42- _____ с.12

прибавляют 100 мл 80 % этилового спирта, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 минут. Полученное извлечение осторожно фильтруют через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу на 200 мл, избегая попадания частиц сырья в воронку. К оставшемуся в колбе сырью прибавляют 100 мл 80 % этилового спирта, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 минут. Колбу охлаждают в течение 15 минут. Содержимое колбы фильтруют в мерную колбу с первой порцией извлечения через тот же бумажный фильтр. Оставшееся в колбе сырье ополаскивают 20 мл 80 % этилового спирта и фильтруют в мерную колбу. Полученное извлечение доводят в мерной колбе до 200 мл (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 3 мл раствора А, 2 мл 3% спиртового раствора хлорида алюминия, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты и доводят раствор до метки этиловым спиртом 95% (раствор В). Через 30 минут измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 409 нм в кювете толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 3 мл раствора А, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты, доведенный этиловым спиртом 95% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность комплекса раствора ГСО рутина с раствором алюминия хлорида: к 1 мл 0,05% раствора рутина прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,1 мл 30% раствора уксусной кислоты и доводят раствор этиловым спиртом 95% до 25 мл в мерной колбе.

Содержание суммы флавоноидов (X) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье (в %) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 200 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot V \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

D – оптическая плотность исследуемого раствора;

D₀ – оптическая плотность комплекса ГСО рутин с алюминия хлоридом;

m – навеска сырья, в граммах;

ФС 42- _____ с.13

m_0 - масса ГСО рутина в спектрофотометрируемой пробе, в граммах;

V – объем исследуемого раствора, взятого для анализа, мл;

W – потеря в массе сырья при высушивании, %.

Определение диагностически значимых признаков. *Цельное сырье, измельченное сырье* – содержание диагностически значимых признаков (ДЗП) не менее 30 %.

Аналитическую пробу сбора измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. 1-2 г готового порошка помещают в пробирку, закрывают пробкой и перемешивают содержимое путем многократного переворачивания до получения равномерной смеси. На предметное стекло, размеченное на квадраты (16 квадратов при величине покровного стекла 24x24мм) наносят каплю 5 % раствора натрия гидроксида. Кончик препаравальной иглы обмакивают в каплю раствора натрия гидроксида и погружают в порошок сбора (на глубину 1,5 – 2 мм). Количество порошка на кончике иглы смывают в капле на предметном стекле, накрывают покровным стеклом и прогревают для просветления над пламенем горелки. После охлаждения высасывают фильтровальной бумагой раствор натрия гидроксида, добавляя с другой стороны стекла пипеткой 33% раствор глицерина. Готовый препарат помещают под микроскоп и подсчитывают при увеличении $15\times$ и $1,5\times 10$ (или при другом удобном увеличении) количество диагностически значимых признаков (ДЗП) и незначимых признаков (НЗП). Диагностически значимыми признаками листьев боярышника кроваво-красного являются: обрывки верхнего эпидермиса со слабоизвилистыми стенками, четковидными утолщениями и со складчатой кутикулой, извилистые клетки нижнего эпидермиса с погруженными устьицами и аномоцитным типом устьичного аппарата, с простыми одноклеточными волосками и обрывками эпидермиса с основанием волоска с розеткой клеток, многоклеточные железки.

ФС 42- _____ с.14

$$X = \frac{ДЗП \cdot 100\%}{ЗП + НЗп}$$

, где

ДЗП — количество в микропрепарате диагностически значимых признаков;

НЗП — количество незначимых анатомических признаков в микропрепарате.

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. 3года.

Фармакологическая группа. Антиангинальное средство растительного происхождения.

Проректор по научной и
инновационной работе
ГБОУ ВПО «Башкирский
государственный медицинский
университет» Минздрава России



В.А.Катаев

15 " апреля 2014 г.

Генеральный директор ООО
«Травы Башкирии»



А.А.Иванов

22 " мая 2014 г.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Директор ЦФиМС ФГБУ

«Научного центра экспертизы средств
медицинского применения» Минздрава России

_____ Е.И. Саканян

"__" _____ 20__ г.

СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ПРОЕКТ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ ПРЕДПРИЯТИЯ

Производитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Заявитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Разработчик: ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России

«Кардиофит-ИБС» сбор

ФСП 42-XXXX-XX

«*Cardiophytum-IBS*» species

Вводится впервые

Срок введения установлен

«__» _____ 20__ года

Срок действия до

«__» _____ 20__ года

Сбор, состоящий из 14 видов лекарственного растительного сырья, собранных в фазу цветения (листья, травы, цветки) и плодоношения (плоды, корни) дикорастущих и культивируемых многолетних растений: плоды боярышника - fructus *Grataegi* (боярышник кроваво-красный – *Grataegus sanguinea* Pall., сем. розоцветные – *Rosaceae*) – 1 часть, трава пустырника - herba *Leonuri* (пустырник пятилопастной - *Leonurus quinquelobatus*, сем.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

ФСП 42- _____ с.2

яснотковые – *Lamiaceae*)– 1 часть, соплодия хмеля - *strobilae Lupuli* (хмель обыкновенный - *Humulus lupulus*, сем. коноплёвые - *Cannabaceae*) – 1 часть, листья мяты перечной - *folia Menthae piperitae* (мята перечная- *Mentha piperita* L., сем. яснотковые – *Lamiaceae*) – ½ части, трава донника - *herba Melliloti* (донник лекарственный – *Mellilotus officinalis* L., сем. бобовые – *Fabaceae*) – 2 части, корневища и корни девясила - *rizomata et radices Inulae* (девясил высокий -*Inula helenium*, сем. сложноцветные -*Asteraceae*) – 1 часть, плоды аронии черноплодной - *fructus Aroniae melanocarpae* (арония черноплодная - *Aronia melanocarpa*, сем. розоцветные - *Rosaceae*)– 1 часть, трава золотысячника - *herba Centaurii* (золототысячник обыкновенный - *Centaureum erythraea*, сем. горечавковые - *Gentianaceae*) – 1 часть, листья земляники лесной - *folia Fragariae vescae* (земляника лесная - *Fragaria vesca*, сем. розоцветные - *Rosaceae*) – 1 часть, трава Melissa лекарственной - *herba Melissa officinalis* (мелисса лекарственная - *Melissa officinalis*, сем. яснотковые - *Lamiaceae*) – 2 части, трава полыни обыкновенной - *herba Artemisiae vulgaris* (полынь обыкновенная – *Artemisia vulgaris* L., сем. астровые – *Asteraceae*) – 1 часть, столбики с рыльцами кукурузы - *styli cum stigmatibus Zeae maidis* (кукуруза обыкновенная -*Zea mays*, сем. злаковые – *Poaceae*) – 1 часть, плоды рябины - *fructus Sorbi* (рябина обыкновенная – *Sorbus aucuparia* L., сем. розоцветные – *Rosaceae*) – 1 часть, плоды тмина - *fructus Carvi* (тмин обыкновенный - *Carum carvi*, сем. зонтичные - *Apiaceae*) – 1 часть.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

ФСП 42- _____ с.3

Показатели качества	Методы испытания	Нормы
1	2	3
<i>Внешние признаки</i>	Визуальный (с помощью микроскопа и лупы), органолептический, ГФ XI	Соответствует ФСП
<i>Микроскопия</i>	ГФ XI, вып. 1	Соответствует ФСП
<i>Качественные реакции</i>	ТСХ	Соответствует ФСП
<i>Числовые показатели:</i> Содержание флавоноидов в пересчете на рутин ДЗП Влажность Золы общей Органическая примесь Минеральная примесь Измельченность: частиц, не проходящих сквозь сито d=5 мм частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм Измельченность порошка сбора для фильтр-пакетов: частиц, не проходящих сквозь сито d=2 мм частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм	Дифференциальная спектрофотометрия Микродиагностический ГФ XI, вып. 1 ГФ XII ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1	Не менее 1,2 % не менее 40% не более 10% не более 8% не более 3,0% не более 2,0% не более 12% не более 6% не более 10% не более 6%
<i>Микробиологическая Чистота</i>	ГФ XII, ст.32	Соответствует категории 4А

ФСП 42- _____ с.4

<i>Упаковка</i>		Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные; в мешки 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.
<i>Маркировка</i>		Соответствует ФСП
<i>Транспортирование</i>		
<i>Хранение</i>		В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25°C
<i>Срок годности</i>		3 года
<i>Фармакологическая группа</i>		Антиангинальное средство растительного происхождения

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Сбор представляет собой смесь неоднородных по структуре и окраске компонентов:

- ◆ Плоды разнообразной формы, твердые, морщинистые, бордового или темно-красного цвета, форма косточек неправильная треугольная, овальная (плоды боярышника);

- ◆ Стебли, листья и соцветия, опушенные волосками, различной формы серовато-зеленого цвета (трава пустырника);

- ◆ «Шишки» желтовато-зеленого или золотисто-зеленого цвета (соплодия хмеля);

ФСП 42- _____ с.5

- ♦ Листья эллиптической формы с пильчатым краем, поверхность которых голая, снизу по жилкам редкие, прижатые волоски и по всей пластине листа – блестящие золотисто-желтые железки (листья мяты перечной);
- ♦ Стебли, листья зеленоватого цвета различной формы с мелкими желтыми цветками (травя донника);
- ♦ Корни различной формы серовато-бурого, желтовато-серого, желтовато-белого цвета, заметными буроватыми блестящими точечками – вместилищами эфирных масел (корневища и корни девясила);
- ♦ Плоды разнообразной формы – от черного до пурпурно-черного цвета с сизым налетом, семена мелкие коричневые (плоды аронии черноплодной);
- ♦ Стебли, листья и цветки различной формы желтовато-зеленого, розовато-фиолетового и желтого цвета (травя золототысячника);
- ♦ Листья тройчатые с зубчатым краем от зеленого до серовато-зеленого цвета (листья земляники лесной);
- ♦ Стебли, листья и соцветия различной формы светло-зеленого цвета снизу по жилкам с редкими, прижатыми волосками (травя мелиссы лекарственной);
- ♦ Стебли, листья и соцветия различной формы серо-зеленого цвета, листья с загнутыми вниз краями, сверху зеленые, голые, снизу беловолочные (травя полыни обыкновенной);
- ♦ Кусочки нитевидные, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 5 мм, цвет коричневый, коричнево-красный, светло-желтый (кукурузные столбики с рыльцами);
- ♦ Плоды разнообразной формы, блестящие, сильно морщинистые, красновато – или желтовато-оранжевые, буровато-красные (плоды рябины);
- ♦ Плоды (вислоплодники) серповидной формы темно-бурого цвета с тонкими светлыми полосками (плоды тмина).

ФСП 42- _____ с.6

Запах ароматный, своеобразный; вкус водного извлечения горьковато-сладкий.

Измельченное сырье. Кусочки листьев, цветков, стеблей, корней различной формы и размера, с цельными плодами рябины, аронии, боярышника, тмина, проходящие сквозь сито размером 5 мм, цвет кусочков сбора преимущественно зелёный, с красными, бурыми, темно-зелёными включениями. Запах ароматный, своеобразный. Вкус водного извлечения горьковато-сладкий.

Порошок. Кусочки листьев, плодов, цветков, стеблей, корней различной формы и размера, проходящие сквозь сито размером 2 мм, цвет кусочков сбора преимущественно зелёный, с красными, бурыми, темно-зелёными включениями. Запах ароматный, своеобразный. Вкус водного извлечения горьковато-сладкий.

Микроскопия. *Цельное сырье.* В плодах боярышника – четырех-, шестиугольные клетки эпидермиса с окончатými утолщёнными стенками и с желто-бурым содержимым, округлые или овальные клетки мякоти, содержащие включения оранжево-красного или буровато-желтого цвета (каротиноиды), мелкие друзы и призматические кристаллы оксалата кальция, в коллатеральных пучках мякоти встречаются одиночные склереиды, каменистые клетки и кристаллоносная обкладка (рисунок1);

- в траве пустырника – клетки эпидермиса с извилистостенными клетками и диацидным устьичным аппаратом, эфиромасличные желёзки на короткой ножке с 2-4 выделительными клетками, волоски трех типов: многочисленные длинные остро-конусовидные многоклеточные, грубобородавчатое расширенные в местах соединения клеток; волоски согнутые по краю листа; мелкие головчатые волоски на одно- двухклеточной короткой ножке с округлой головкой (рисунок 2);

ФСП 42- _____ с.7

- в соплодиях хмеля - на внутреннем эпидермисе – сильноизвилистые стенки клеток, блюдцевидные железки, простые одноклеточные остроконусовидные волоски (рисунок3);
- в листьях мяты перечной – клетки верхнего эпидермиса со слабоизвилистыми стенками, устьичный аппарат диацитного типа, мелкие головчатые волоски, состоящие из короткой одноклеточной ножки и одноклеточной обратнойцевидной головки (рисунок4);
- в траве донника – многоугольные клетки верхнего эпидермиса и сильно извилистые – нижнего, устьичный аппарат аномоцитного типа, кристаллоносная обкладка сосудов жилки (рисунок5);
- в корневищах и корнях девясила – крупные округлые или овальные, со слоем выделительных клеток, схизогенные вместилища со смолой и эфирным маслом (рисунок6);
- в плодах аронии черноплодной – клетки эпидермиса окончатого типа, каменистые клетки, друзы оксалата кальция, желтоватые хромопласты (рисунок7);
- в траве золототысячника – клетки нижнего эпидермиса с сильноизвилистыми стенками и складчатой кутикулой, устьичный аппарат анизоцитного типа, кристаллоносная обкладка вдоль сосудов жилки (рисунок8);
- в листьях земляники лесной – ромбические кристаллы вдоль главных жилок и многочисленные волоски двух типов: головчатые железистые и простые одноклеточные остроконечные с расширенным основанием (рисунок9);
- в траве мелиссы лекарственной – клетки эпидермиса с извилистыми стенками, эфиромасличные железки, состоящие из 8 радиально расположенных выделительных клеток, головчатые и простые волоски, сосочковидные и конусовидные волоски с бородавчатой кутикулой, устьичный аппарат диацитного типа (рисунок 10);

ФСП 42- _____ с.8

- в траве полыни обыкновенной – многочисленные простые волоски с тонкими стенками, у основания с 1-2 короткими клетками и длинной конечной клеткой и эфиромасличные железки (рисунок11);
- в столбиках с рыльцами кукурузы – многоклеточные ворсинки вдоль вытянутых клеток эпидермиса с прямыми стенками (рисунок12);
- в плодах рябины – разнообразные клетки с каротиноидами и одноклеточные волоски, встречаются каменистые клетки различные по форме и размеру (рисунок13);
- в плодах тмина – эфиромасличные каналцы и капли жирного масла (рисунок14).

Измельченное сырье, порошок. При рассмотрении измельченного сбора или порошка видны обрывки эпидермиса с четырех-, шестиугольными клетками с окончатými утолщёнными стенками и с желто-бурым содержимым, округлые или овальные клетки мякоти, содержащие включения оранжево-красного или буровато-желтого цвета (каротиноиды), мелкие друзы и призматические кристаллы оксалата кальция, одиночные склереиды, каменистые клетки (плоды боярышника); обрывки эпидермиса с дицитным устьичным аппаратом, желёзками на короткой ножке с 2-4 выделительными клетками; волосками трех типов: многочисленные длинные многоклеточные, грубобородавчатые, расширенные в местах соединения клеток; волоски, согнутые по краю листа; мелкие головчатые волоски на одно-двуклеточной короткой ножке с округлой головкой (травы пустырника); обрывки эпидермиса с сильноизвилистыми клетками с блюдцевидными железками и одноклеточными волосками (соплодия хмеля); обрывки эпидермиса с клетками сильноизвилистыми стенками, устьичный аппарат дицитного типа, мелкие головчатые волоски, состоящие из короткой одноклеточной ножки и одноклеточной обратнойцевидной головки, крупные эфиромасличные железки с 8 (редко 6) выделительными клетками (листья

ФСП 42- _____ с.9

мяты перечной); обрывки эпидермиса с многоугольными клетками верхнего эпидермиса и сильно извилистыми – нижнего; устьичный аппарат аномоцитного типа; кристаллоносная обкладка сосудов; простые волоски одноклеточные тонкостенные и зазубренным краем; головчатые волоски на 1-2 клеточной ножке с 1-4 клеточной головкой с прозрачным или светло-бурым содержимым (трава донника); обрывки паренхимы с крупными округлыми или овальными со слоем выделительных клеток схизогенными вместилищами со смолой и эфирным маслом (корневища и корни девясила); обрывки эпидермиса с клетками окончательного типа, каменистые клетки, желтоватые хромопласты (плоды аронии черноплодной); обрывки эпидермиса с извилистостенными клетками и складчатой кутикулой, устьичным аппаратом анизоцитного типа, иногда встречаются крестообразно сросшиеся кристаллы (трава золототысячника); обрывки эпидермиса с ромбическими кристаллами вдоль главных жилок и многочисленными волосками двух типов: головчатые железистые и простые одноклеточные остроконечные с расширенным основанием (листья земляники лесной); обрывки эпидермиса с извилистостенными клетками и диацитным устьичным аппаратом, эфиромасличные железки, состоящие из 8 радиально расположенных выделительных клеток; головчатые и простые волоски; сосочковидные и конусовидные волоски с бородавчатой кутикулой (трава мелиссы лекарственной); обрывки эпидермиса с многочисленными простыми волосками с тонкими стенками, у основания с 1-2 короткими клетками и длинной конечной клеткой и продолговатыми эфиромасличными железками (трава полыни обыкновенной); обрывки эпидермиса с многоклеточными ворсинками вдоль вытянутых клеток с прямыми стенками (столбики с рыльцами кукурузы); обрывки паренхимы с клетками с каротиноидами и одноклеточными волосками, каменистые клетки различные по форме и размеру (плоды рябины); обрывки эфиромасличных канальцев и капли жирного масла (плоды тмина).

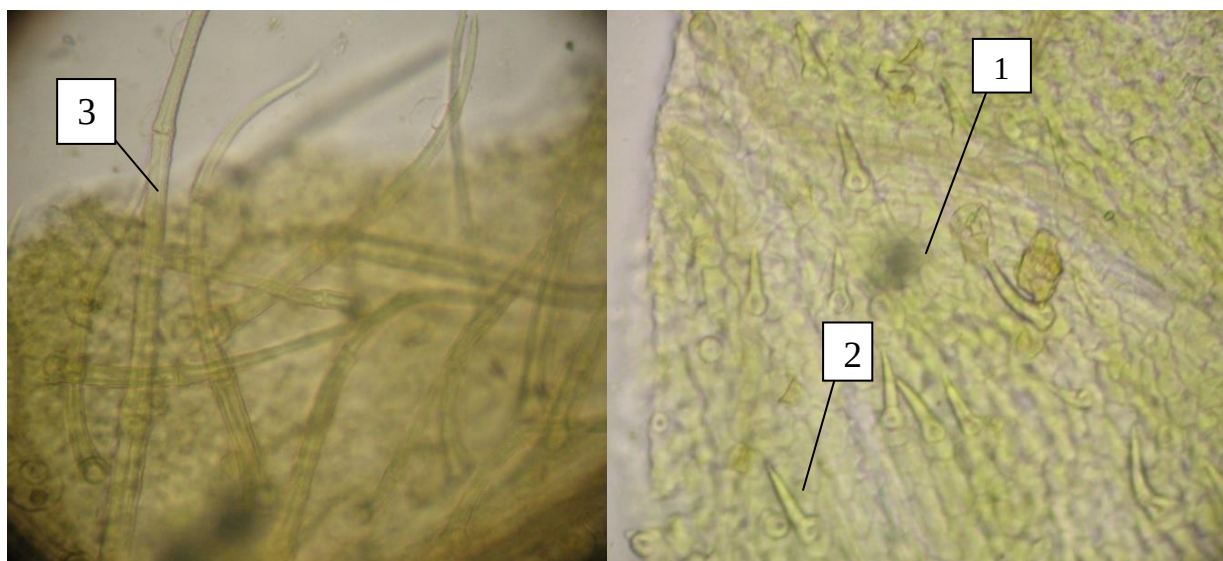
ФСП 42- _____ с.10



Ув. 10×10

Ув 10×40

Рисунок1. Клетки с каротиноидами (1), каменистые клетки с окончатыми утолщёнными стенками (2) в плодах боярышника.

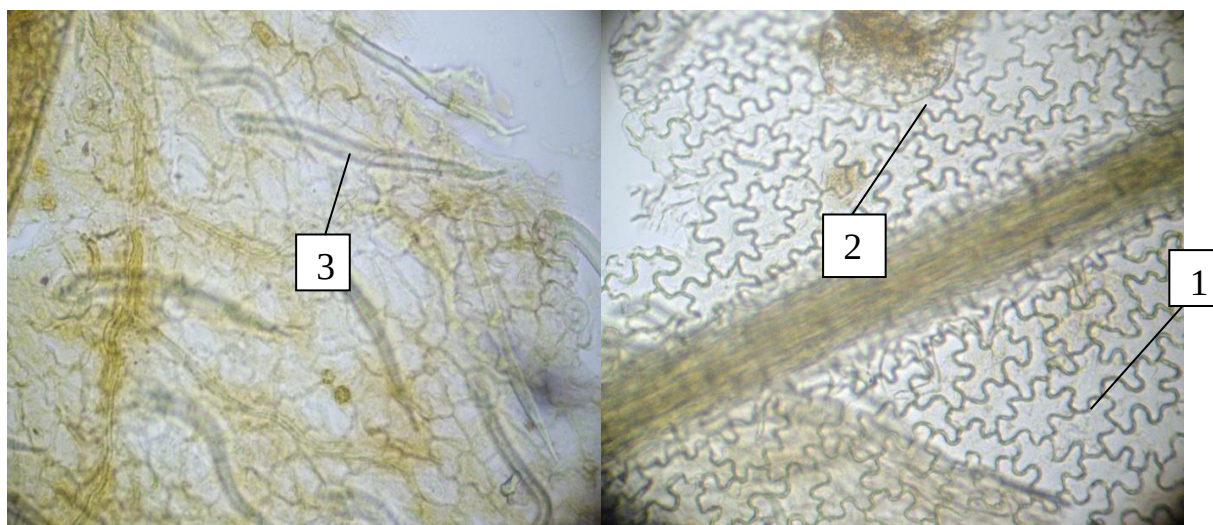


Ув. 104×10

Ув.10×10

Рисунок2. Эфиромасличные железки (1), головчатые (2) и простые многоклеточные остроконусовидные (3) волоски в траве пустырника.

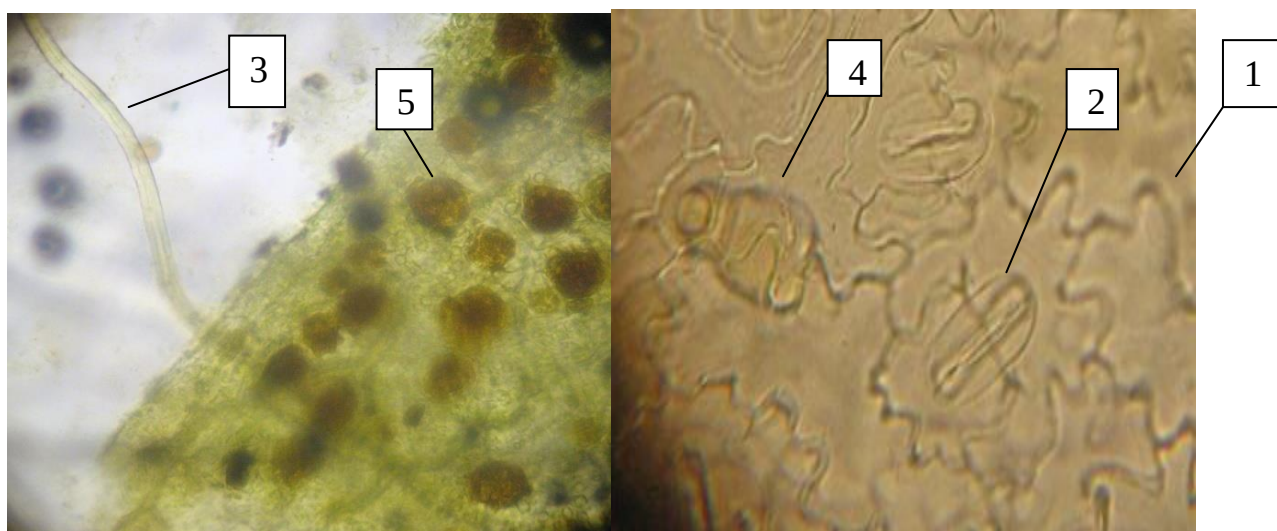
ФСП 42- _____ с.11



Ув. 10×10

Ув. 10×10

Рисунок3. Сильноизвилистые стенки клеток внутреннего эпидермиса (1), блюдце-видные железки (2), простые одноклеточные остроконусовидные волоски (3) в соплодиях хмеля.



Ув. 10×10

Ув. 10×40

Рисунок4. Слабоизвилистые стенки клеток верхнего эпидермиса (1), эфиромаслические железки (2), простые (3) игольчатые волоски с одноклеточной ножкой и одноклеточной обратнойцевидной головкой (4), устьица диацитного типа (5) в листьях мяты перечной.

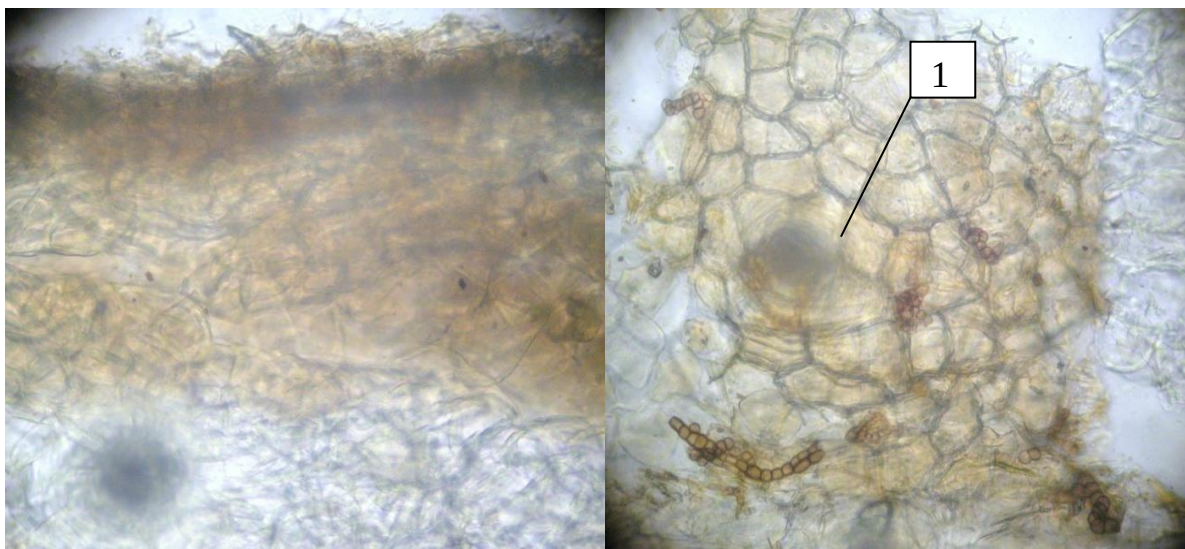
ФСП 42- _____ с.12



Ув. 10×10

Ув.10×40

Рисунок5. Многоугольные клетки верхнего эпидермиса (1) и устьичный аппарат аномоцитного типа (2), кристаллоносные обкладки сосудов (3) в траве донника.

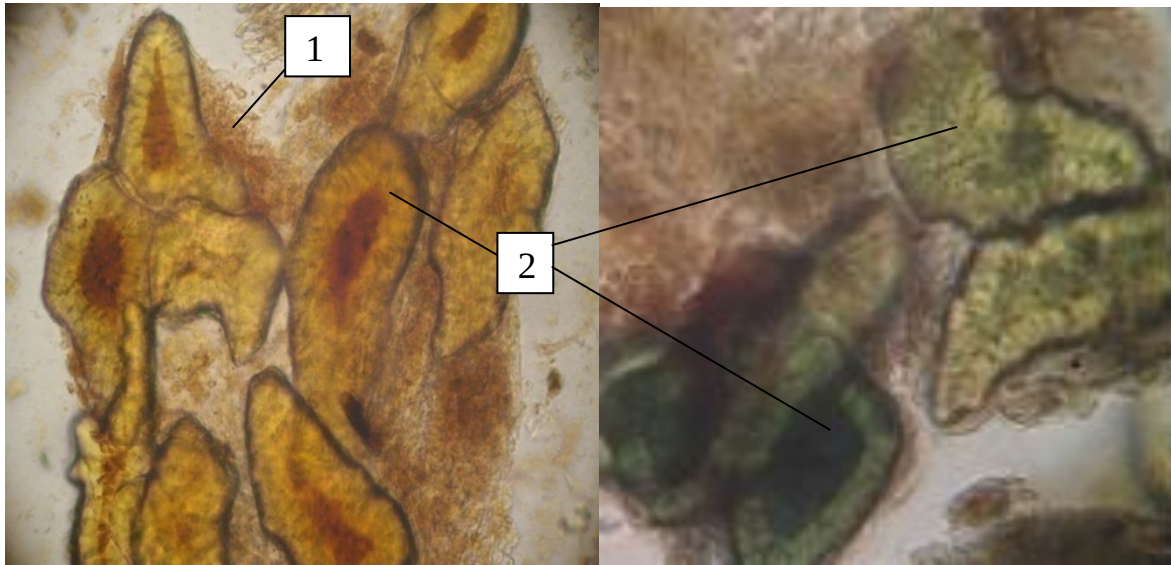


Ув. 10×10

Ув.10×40

Рисунок6. Вместилища со смолой и эфирным маслом (1) в корневищах и корнях девясила.

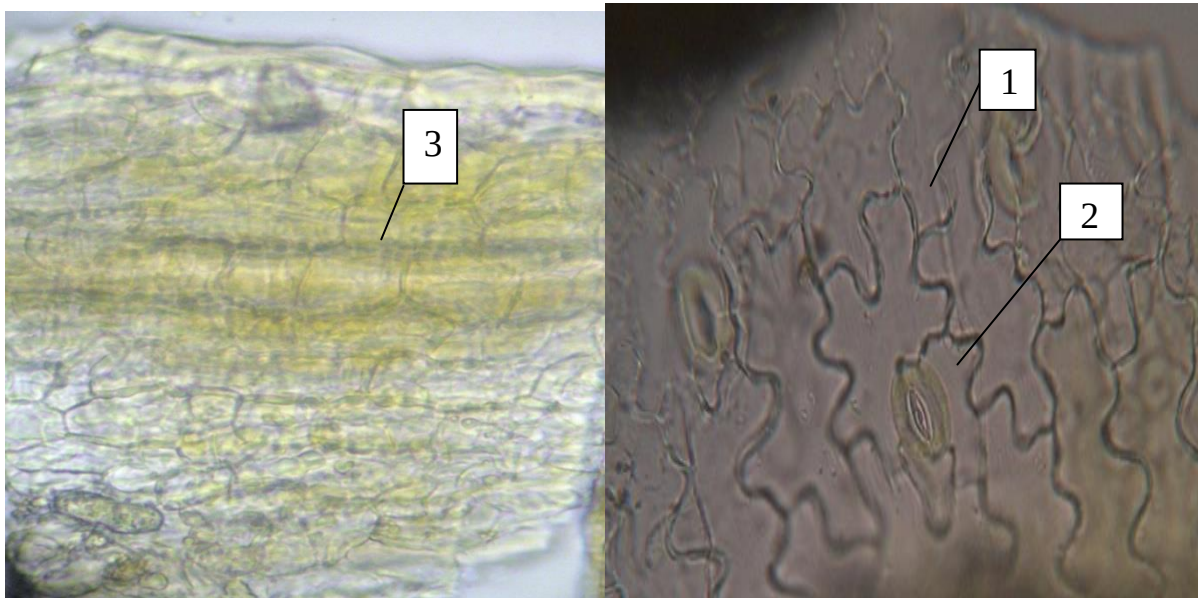
ФСП 42- _____ с.13



Ув. 10×40

Ув.10×40

Рисунок7. Каменистые клетки (1), желтоватые хромопласты (2) в плодах аронии черноплодной

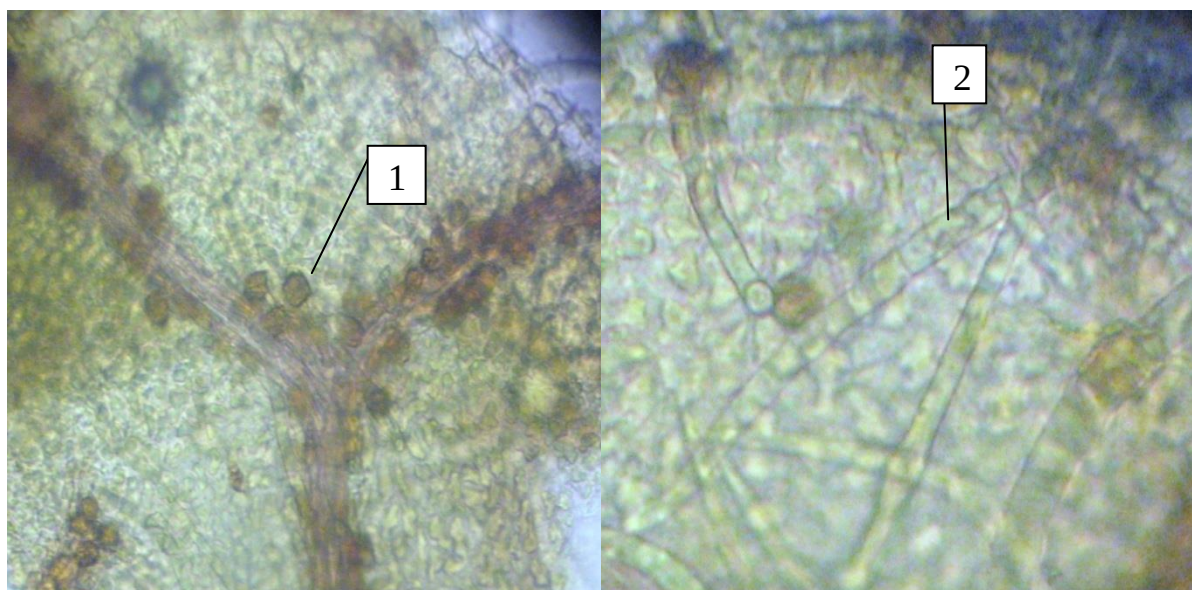


Ув. 10×10

Ув.10×40

Рисунок8. Клетки с сильноизвилистыми стенками нижнего эпидермиса (1), устьичный аппарат анизоцитного типа (2), кристаллоносная обкладка вдоль проводящей системы (3) в траве золототысячника.

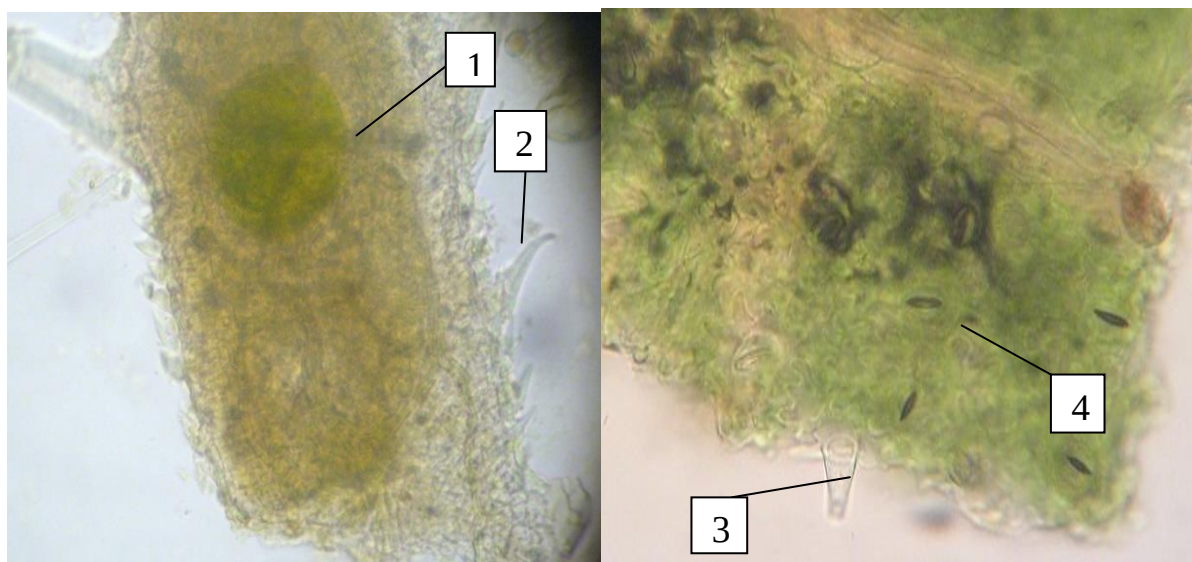
ФСП 42- _____ с.14



Ув. 10×10

Ув.10×40

Рисунок9. Ромбические кристаллы (1) вдоль главных жилок и простые остроко-
нечные волоски (2) в листьях земляники лесной.

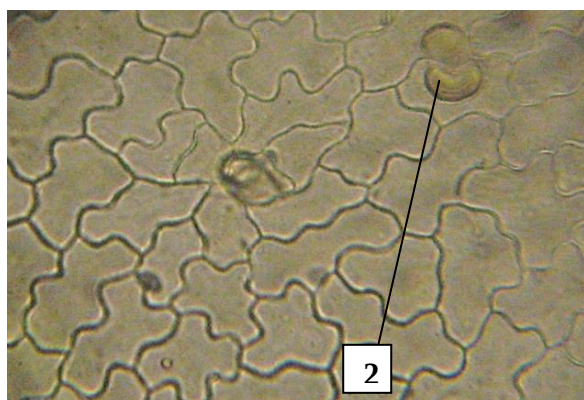


Ув. 10×4

Ув.10×10

Рисунок10. Эфиромасличные железки (1), конусовидные (2) и головчатые (3) во-
лоски, устьичный аппарат диацитного типа (4) в траве мелиссы лекарственной.

ФСП 42- _____ с.15

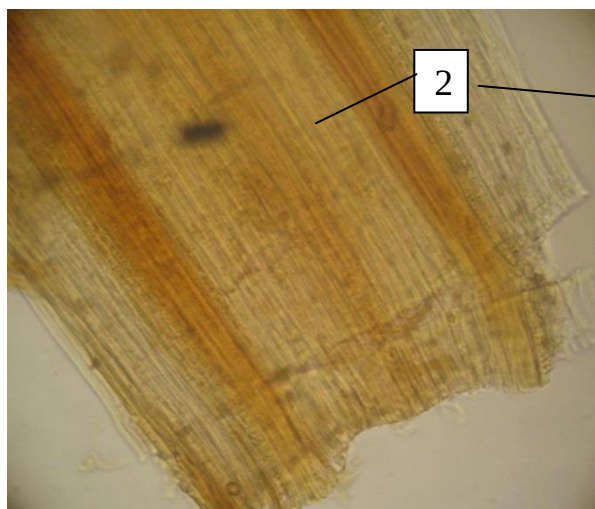


Ув. 10×40

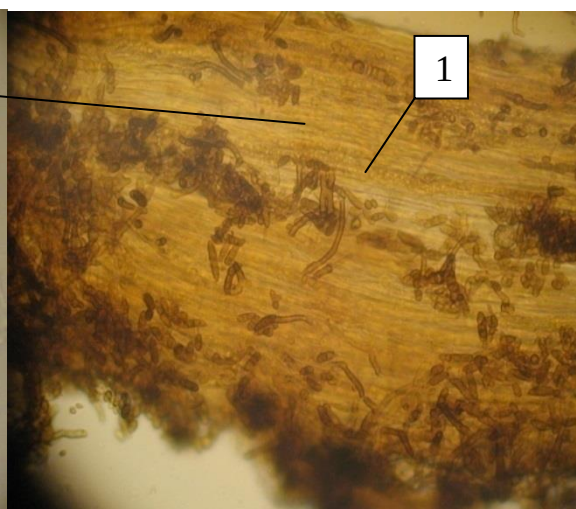


Ув.10×40

Рисунок 11. Простые волоски с тонкими стенками, у основания с 1-2 короткими клетками и длинной конечной клеткой (1) и эфиромасличные железки (2) в траве полыни обыкновенной.



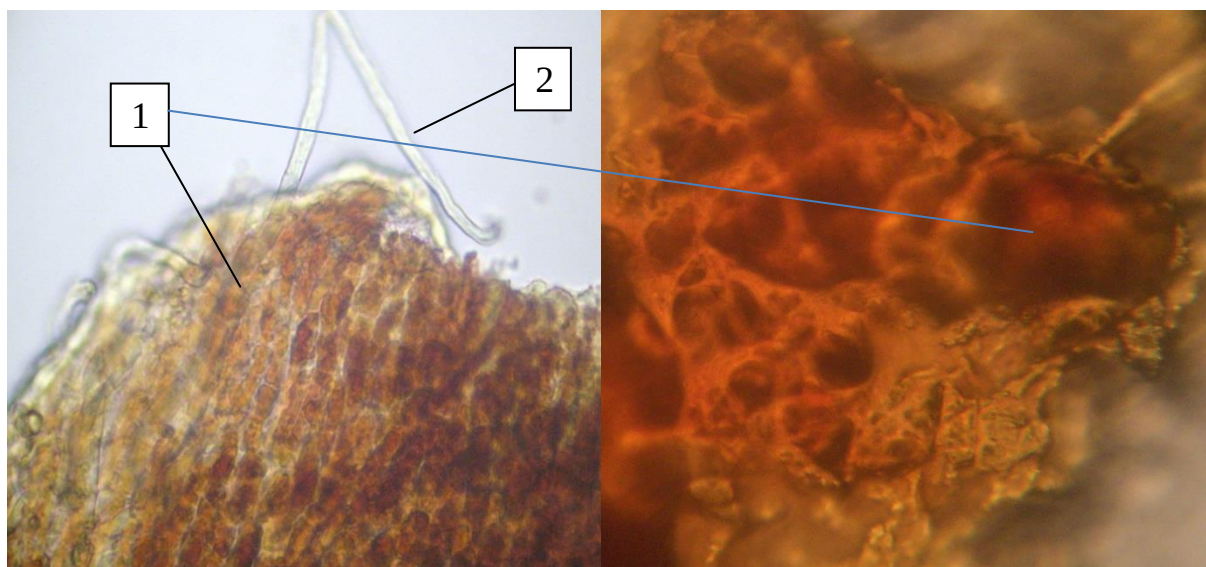
Ув. 10×4



Ув.10×10

Рисунок 12. Многоклеточные ворсинки (1) вдоль вытянутых клеток (2) эпидермиса в столбиках с рыльцами кукурузы.

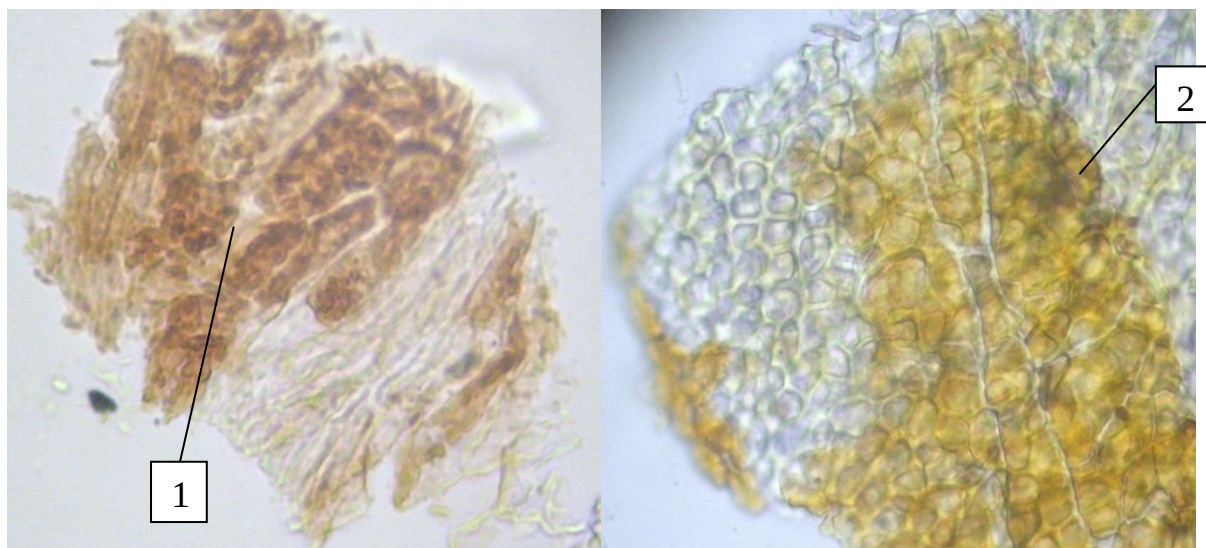
ФСП 42- _____ с.16



Ув. 10×10

Ув.10×40

Рисунок 13. Клетки с каротиноидами (1), одноклеточные волоски (2) в плодах рябины.



Ув. 10×10

Ув.10×40

Рисунок 14. Эфиромасличные каналы (1) и капли жирного масла (2) в плодах тмина.

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография. Около 1,0 г сбора, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм,

ФСП 42- _____ с.17

помещают в колбу вместимостью 50 мл, приливают 10 мл 40% этилового спирта и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 20 мкл испытуемого раствора и по 5 мкл 0,05% раствора СО рутина, гиперозида и кверцетина. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей: этилацетат - муравьиная кислота - вода (8:1:1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворителя и просматривают в УФ-свете. На хроматограмме испытуемого раствора при длине волны 365 нм должна обнаруживаться три основных зоны адсорбции бурого цвета на уровне СО рутина, гиперозида и кверцетина. Допускается обнаружение дополнительных зон.

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 используется система растворителей: этилацетат-муравьиная кислота-вода (8:1:1). Система используется свежеприготовленная. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей в течение 1 часа.
4. Приготовление растворов сравнения.

Раствор СО рутина: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца рутина, предварительно высушенного при температуре 130-140°C в течение

ФСП 42- _____ с.18

3 часов, растворяют в 85 мл этилового спирта 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом 95 % до метки и перемешивают.

Раствор СО гиперозида: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца гиперозида, предварительно высушенного при температуре 100-105°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл этилового спирта 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом 95 % до метки и перемешивают.

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

ИСПЫТАНИЯ

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

Зола общая. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - не более 8%.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – 3%.

Измельченность сырья. *Измельченное сырье* - частиц, не проходящих сквозь сито d=5 мм не более 12%, частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм не более 6%.
Порошок - частиц, не проходящих сквозь сито d=2 мм не более 10%, частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм не более 6%.

Посторонние примеси.

Органическая примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - не более 3,0%.

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

ФСП 42- _____ с.19

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, порошок* – содержание флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,2 %.

Приготовление раствора государственного стандартного образца (ГСО) рутина. Около 0,05 г (точная навеска) ГСО рутин (ФС 42-2508-87), высушенного при температуре 130-140 °С, растворяют при нагревании на водяной бане в 80 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 5%.

9,6 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.

ФСП 42- _____ с.20

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 2,0 г (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл и заливают 50 мл 40 % этилового спирта. Колбу нагревают на водяной бане с обратным холодильником 30 мин от начала кипения. Извлечение искусственно охлаждают, фильтруют в мерную колбу на 100 мл через бумажный фильтр, фильтр с содержимым вносят в колбу для экстрагирования, и экстракцию повторяют еще раз, в течение 30 минут, используя 45 мл 40 % этилового спирта. Извлечение фильтруют в ту же колбу, через бумажный фильтр. Сырье и фильтр промывают 5 мл 40 % этилового спирта, доводят объём извлечения 40% этиловым спиртом до метки и используют для анализа (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 4 мл полученного извлечения (раствора А), добавляют 2 мл 5 % спиртового раствора хлорида алюминия, 0,05 мл разведённой хлористоводородной кислоты и доводят объём в колбе 95 % этиловым спиртом до метки (раствор В). Содержимое колбы перемешивают и через 30 мин измеряют оптическую плотность на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 402 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 4 мл раствора А и 0,05 мл разведенной хлористоводородной кислоты (приготовленной из концентрированной хлористоводородной кислоты, при соотношении кислоты и воды очищенной 1:2), доведенный 95 % спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно проводят измерение ГСО рутина. Для этого 1 мл 0,05 % раствора ГСО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 5 % спиртового раствора алюминия хлорида, 0,05 мл разведённой хлористоводородной кислоты, доводят объём раствора спиртом этиловым 95 % до метки и перемешивают (раствор С). В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл 0,05 % раствора ГСО рутина и

ФСП 42- _____ с.21

0,05 мл разведенной хлористоводородной кислоты, доведенный спиртом этиловым 95% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Через 30 минут измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм.

Содержание суммы флавоноидов в процентах в пересчете на рутин на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$C \% = \frac{D \times V_1 \times a_0 \times 100 \times 100}{D_0 \times a \times V_2 \times (100 - W)}, \text{ где}$$

D - оптическая плотность анализируемого раствора;

D_0 - оптическая плотность ГСО рутина;

a_0 - количество ГСО рутина в спектрофотометрируемой пробе, г;

V_1 - объем раствора А, мл;

V_2 - объем извлечения для анализа, мл;

α - навеска сбора, г;

W - потеря в массе при высушивании, %.

Определение диагностически значимых признаков. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – содержание диагностически значимых признаков (ДЗП) не менее 40 %.

Аналитическую пробу сбора измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. 1-2 г готового порошка помещают в пробирку, закрывают пробкой и перемешивают содержимое путем многократного переворачивания до получения равномерной смеси. На предметное стекло, размеченное на квадраты (16 квадратов при величине покровного стекла 24×24мм) наносят каплю 5 % раствора натрия гидроксида. Кончик препаровальной иглы обмакивают в каплю раствора натрия гидроксида и погружают в порошок сбора (на глубину 1,5 – 2 мм). Количество порошка на кончике иглы смывают в капле на

\

ФСП 42- _____ с.22

предметном стекле, накрывают покровным стеклом и прогревают для просветления над пламенем горелки. После охлаждения высасывают фильтровальной бумагой раствор натрия гидроксида, добавляя с другой стороны стекла пипеткой 33% раствор глицерина. Готовый препарат помещают под микроскоп и подсчитывают при увеличении $15\times$, $1,5\times 10$ (или при другом удобном увеличении) количество диагностически значимых частиц (ДЗП) и незначимых частиц (НЗП) сбора.

Диагностически значимыми признаками сбора являются: обрывки эпидермиса с четырех-, шестиугольными клетками с окончатыми утолщёнными стенками и с желто-бурым содержимым, одиночные склереиды, каменистые клетки (плоды боярышника); обрывки эпидермиса с диацитным устьичным аппаратом, желёзками на короткой ножке с 2-4 выделительными клетками; волосками трех типов: многочисленные длинные многоклеточные, грубобородавчатые, расширенные в местах соединения клеток; мелкие головчатые волоски на одно-двуклеточной короткой ножке с округлой головкой (трава пустырника); обрывки эпидермиса с сильноизвилистыми клетками с блюдцевидными железами и одноклеточными волосками (соплодия хмеля); обрывки эпидермиса с клетками сильноизвилистыми стенками, устьичный аппарат диацитного типа, мелкие головчатые волоски, состоящие из короткой одноклеточной ножки и одноклеточной обратно-яйцевидной головки, крупные эфиромасличные железы с 8 (редко 6) выделительными клетками (листья мяты перечной); обрывки эпидермиса с многоугольными клетками верхнего эпидермиса и сильно извилистыми – нижнего; устьичным аппаратом аномоцитного типа; кристаллоносная обкладка сосудов; простые волоски одноклеточные тонкостенные и зазубренным краем; головчатые волоски на 1-2 клеточной ножке с 1-4 клеточной головкой с прозрачным или светло-бурым содержимым (трава донника); обрывки паренхимы с крупными округлыми или овальными со слоем выделительных клеток схизогенными вместилищами со смолой и эфирным маслом (корневища и корни девясила); обрывки эпидермиса с

ФСП 42- _____ с.23

клетками окончатого типа, каменистые клетки фиолетового цвета (плоды аронии черноплодной); обрывки эпидермиса с извилистостенными клетками и складчатой кутикулой, устьичным аппаратом анизоцитного типа, иногда встречаются крестообразно сросшиеся кристаллы (трава золототысячника); обрывки эпидермиса с ромбическими кристаллами вдоль главных жилок и многочисленными волосками двух типов: головчатые железистые и простые одноклеточные остроконечные с расширенным основанием (листья земляники лесной); обрывки эпидермиса с извилистостенными клетками и диацитным устьичным аппаратом, эфиромасличные железки, состоящие из 8 радиально расположенных выделительных клеток; головчатые и простые волоски; сосочковидные и конусовидные волоски с бородавчатой кутикулой (трава мелиссы лекарственной); обрывки эпидермиса с многочисленными простыми волосками с тонкими стенками, у основания с 1-2 короткими клетками и длинной конечной клеткой и продолговатыми эфиромасличными железками (трава полыни обыкновенной); обрывки эпидермиса с многоклеточными ворсинками вдоль вытянутых клеток с прямыми стенками (столбики с рыльцами кукурузы); обрывки паренхимы с клетками с каротиноидами и одноклеточными волосками, каменистые клетки различные по форме и размеру (плоды рябины); обрывки эфиромасличных канальцев и капли жирного масла (плоды тмина).

Содержание ДЗП вычисляют по формуле:

$$X = \frac{ДЗП \cdot 100\%}{ЗП + НЗп}$$

, где

ДЗП – количество в микропрепарате диагностически значимых признаков;

НЗП – количество незначимых анатомических признаков в микропрепарате.

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. Антиангинальное средство растительного происхождения.

Проректор по научной и
инновационной работе
ГБОУ ВПО «Башкирский
государственный медицинский
университет» Минздрава России



В.А.Катаев

“15” апреля 2014 г.

Генеральный директор ООО
«Травы Башкирии»



А.А.Иванов

“22” мая 2014 г.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Директор ЦФиМС ФГБУ
«Научного центра экспертизы средств
медицинского применения» Минздрава России
_____ Е.И. Саканян
"___" _____ 20__ г.

СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ПРОЕКТ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ ПРЕДПРИЯТИЯ

Производитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Заявитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Разработчик: ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский
университет Минздрава России

«Ангиофит-НМК» сбор

ФСП 42-XXXX-XX

«*Angiophytum-NMK*» species

Вводится впервые

Срок введения установлен

«___» _____ 20__ года

Срок действия до

«___» _____ 20__ года

Сбор, состоящий из 11 видов лекарственного растительного сырья, собранных в фазу цветения (листья, травы, цветки) и плодоношения (плоды, корни) дикорастущих и культивируемых многолетних растений: плоды боярышника – fructus
tus *Grataegi* (боярышник кроваво-

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

ФСП 42- _____ с.2

красный – *Grataegus sanguinea Pall.*, сем. розоцветные – *Rosaceae*) – 1 часть; плоды шиповника – fructus *Rosae* (шиповник майский – *Rosa majalis Hermm.*, сем. розоцветные – *Rosaceae*) – 1 часть; плоды рябины – fructus *Sorbi* (рябина обыкновенная – *Sorbus aucuparia L.*, сем. розоцветные – *Rosaceae*) – 1 часть; трава полыни обыкновенной – herba *Artemisiae vulgaris* (полынь обыкновенная – *Artemisia vulgaris L.*, сем. астровые – *Asteraceae*) – 1 часть; листья мяты перечной – folia *Menthae piperitae* (мята перечная – *Mentha piperita L.*, сем. яснотковые – *Lamiaceae*) – 1 часть; трава барвинка малого – foia *Vincae minoris* (барвинок малый – *Vinca minor*, сем. кутровые – *Apocynaceae*) – 1 часть; трава сушеницы топяной – herba *Gnaphalii uliginosi* (сушеница топяная – *Gnaphalium uliginosum L. s. l.*, сем. астровые – *Asteraceae*) – 1 часть; листья подорожника большого – folia *Plantaginis majoris* (подорожник большой – *Plantago major L.*, сем. подорожниковые – *Plantaginaceae*) – 1 часть; цветки ромашки – flores *Chamomillae* (ромашка аптечная – *Chamomilla recutita L.*, сем. астровые – *Asteraceae*) – 1 часть; корень солодки – radix *Glycyrrhizae* (солодка голая – *Glycyrrhiza glabra L.*, сем. бобовые – *Fabaceae*) – 1 часть; трава донника лекарственного – herba *Meliloti officinalis* (донник лекарственный – *Melilotus officinalis L.*, сем. бобовые – *Fabaceae*) – 2 части.

ФС 42- _____ с. 3.

Показатели качества	Методы испытания	Нормы
1	2	3
<i>Внешние признаки</i>	Визуальный (с помощью микроскопа и лупы), органолептический, ГФ XI	Соответствует ФСП
<i>Микроскопия</i>	ГФ XI, вып. 1	Соответствует ФСП
<i>Качественные реакции</i>	ТСХ	Соответствует ФСП
<i>Числовые показатели:</i> Содержание флавоноидов в пересчете на рутин ДЗП Влажность Зола общей Органическая примесь Минеральная примесь Измельченность: частиц, не проходящих сквозь сито d=5 мм частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм Измельченность сбора для фильтр-пакетов: частиц, не проходящих сквозь сито d=2 мм частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм	Дифференциальная спектрофотометрия Микродиагностический ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1	Не менее 1,3 % не менее 45% не более 10% не более 8% не более 1,0% не более 0,5% не более 10% не более 4% не более 8% не более 5%
<i>Микробиологическая Чистота</i>	ГФ XII, ст.32	Соответствует категории 4А

ФСП 42- _____ с.4

<i>Упаковка</i>		Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные; в мешки 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.
<i>Маркировка</i>		Соответствует ФСП
<i>Транспортирование</i>		
<i>Хранение</i>		В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25°C
<i>Срок годности</i>		3 года
<i>Фармакологическая группа</i>		Корректоры нарушений мозгового кровообращения растительного происхождения

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Сбор представляет собой смесь неоднородных по структуре и окраске компонентов:

- ◆ Плоды разнообразной формы, твердые, морщинистые, бордового или темно-красного цвета, форма косточек неправильная треугольная, овальная (плоды боярышника);
- ◆ Листья яйцевидной формы с пильчатым краем, поверхность которых голая, снизу по жилкам редкие, прижатые волоски и по всей пластине листа – блестящие золотисто-желтые железки (листья мяты перечной);

ФСП 42- _____ с.5

- ◆ Стебли, листья зеленоватого цвета различной формы с мелкими желтыми цветками (травя донника);
- ◆ Плоды разнообразной формы – от оранжевого до темно-красного цвета, семена треугольные светло-желтые (плоды шиповника);
- ◆ Стебли, листья и соцветия различной формы серо-зеленого цвета, листья с загнутыми вниз краями, сверху зеленые, голые, снизу беловолочные (травя полыни обыкновенной);
- ◆ Плоды разнообразной формы, блестящие, сильно морщинистые, красновато – или желтовато-оранжевые, буровато-красные (плоды рябины);
- ◆ Листья эллиптической формы слегка кожистые ярко-зеленые (травя барвинка малого);
- ◆ Корни волокнистые желтого цвета с бурой перидермой (корни солодки);
- ◆ Цветки белые ложно-язычковые и мелкие трубчатые желтые (цветки ромашки);
- ◆ Листья яйцевидной формы с дуговидным жилкованием (листья подорожника большого);
- ◆ Стебли, листья и соцветия с желтыми трубчатыми цветками светло-серого цвета от войлочного опушения (травя сушеницы топяной).

Запах ароматный, своеобразный; вкус водного извлечения горьковато-сладкий.

Измельченное сырье. Кусочки листьев, плодов, стеблей, корней различной формы и размера, проходящие сквозь сито размером 5 мм, цвет кусочков сбора преимущественно желто-зелёный, с красными, бурыми, темно-зелёными включениями. Запах ароматный, своеобразный. Вкус водного извлечения горьковато-сладкий.

Порошок для фильтр-пакетов. Кусочки листьев, плодов, стеблей, корней различной формы и размера, проходящие сквозь сито размером 2 мм, цвет кусочков сбора преимущественно желто-зелёный, с красными, бурыми,

ФСП 42- _____ с.6

темно-зелёными включениями. Запах ароматный, своеобразный. Вкус водного извлечения горьковато-сладкий.

Микроскопия. *Цельное сырье.* В плодах боярышника – четырех-, шестиугольные клетки эпидермиса с окончатými утолщёнными стенками и с желто-бурым содержимым, округлые или овальные клетки мякоти, содержащие включения оранжево-красного или буровато-желтого цвета (каротиноиды), мелкие друзы и призматические кристаллы оксалата кальция, в коллатеральных пучках мякоти встречаются одиночные склереиды, каменистые клетки и кристаллоносная обкладка (рисунок1);

- в листьях мяты перечной – клетки верхнего эпидермиса со слабоизвилистыми стенками, устьичный аппарат диацитного типа, мелкие головчатые волоски, состоящие из короткой одноклеточной ножки и одноклеточной обратнойцевидной головки (рисунок2);

- в траве донника – многоугольные клетки верхнего эпидермиса и сильно извилистые – нижнего, устьица аномоцитного типа, кристаллоносные обкладки сосудов (рисунок3);

- в траве полыни обыкновенной – многочисленные простые волоски с тонкими стенками, у основания с 1-2 короткими клетками и длинной конечной клеткой и эфиромасличные железки (рисунок4);

- в плодах рябины – разнообразные клетки с каротиноидами и одноклеточные волоски, встречаются каменистые клетки различные по форме и размеру (рисунок5);

- в плодах шиповника - фрагменты наружного эпидермиса гипантия в виде светло-желтых пластов, тонкостенные паренхимные клетки мякоти с оранжево-красными глыбками каротиноидов и друзами оксалата кальция, фрагменты околоплодника орешка, крупные одиночные волоски двух типов - очень крупные прямые с толстой стенкой и узкой полостью и более мелкие, слегка извилистые с широкой полостью (рисунок6);

ФСП 42- _____ с.7

- в траве барвинка малого - фрагменты листовой пластинки с извилистыми стенками эпидермиса. Устьичный аппарат парацитного типа только на нижней стороне листа. Одноклеточные толстостенные остроконечные волоски и мелкие соочки наблюдаются вдоль главной жилки на верхней стороне листа. Крупные многоклеточные железки с желто-коричневым содержимым, встречающиеся у основания пластинки листа, на черешке. Фрагменты многочисленных прямых членистых млечников с желто-зеленым содержимым (рисунок7);

- в траве сушеницы топяной - клетки эпидермиса верхней стороны со слегка извилистыми стенками, с нижней стороны – сильноизвилистые. Устьица крупные, овальные, погруженные, окруженные 4-5 клетками эпидермиса (аномоцитного типа), на нижней стороне их значительно больше. Волоски простые с тонкими стенками с 1-3 базальными клетками и длинной извилистой конечной клеткой встречаются на обеих сторонах. Головчатые волоски состоят из одноклеточной ножки и многоклеточной удлинненно-овальной головки, клетки, которого располагаются в один или два ряда (рисунок8);

- в листьях подорожника большого - фрагменты листовой пластинки с многоугольными с прямыми стенками (верхний) и слабоизвилистыми (нижний) клетками эпидермиса. Устьица крупные округлые или овальные, окружены 3-5 клетками эпидермиса (аномоцитный тип). Волоски простые с расширенным основанием, многоклеточные, гладкие. В местах прикрепления волосков клетки эпидермиса образуют розетку. Головчатые волоски двух типов: на одноклеточной ножке с удлинненной двухклеточной головкой, реже встречаются головчатые волоски на многоклеточной ножке с шарообразной или овальной одноклеточной головкой (рисунок9);

- в цветках ромашки - фрагменты частей цветочной корзинки с вытянутыми с извилистыми стенками клетками эпидермиса трубчатых цветков; фрагменты клеток верхней стороны эпидермиса язычковых цветков с

ФСП 42- _____ с.8

извилистыми сосочковидными выростами. На поверхности язычковых и особенно трубчатых цветков имеются эфирномасличные железки, состоящие из 6-8 клеток, расположенных в два ряда и в 3-4 яруса (рисунок10);

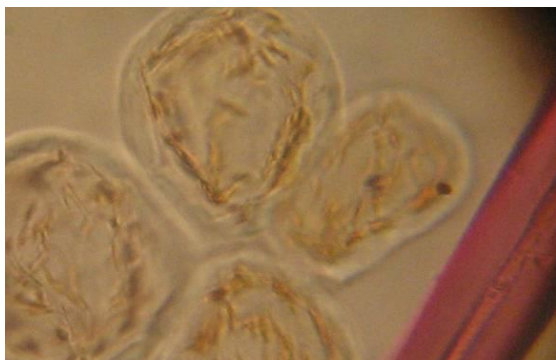
- в корне солодки - фрагменты, имеющие следующие элементы: группы волокон с кристаллоносной обкладкой из призматических кристаллов; обрывки сосудов с широкими короткими члениками («бочковидные») имеют окаймленные поры; сетчатые – более узкие; обрывки трахеид и окаймленными порами (рисунок11).

Измельченное сырье. При рассмотрении измельченного сбора видны обрывки эпидермиса с четырех-, шестиугольными клетками с окончатými утолщёнными стенками и с желто-бурым содержимым, округлые или овальные клетки мякоти, содержащие включения оранжево-красного или буровато-желтого цвета (каротиноиды), мелкие друзы и призматические кристаллы оксалата кальция, одиночные склереиды, каменистые клетки (плоды боярышника); обрывки паренхимы с клетками с каротиноидами и одноклеточные волоски; каменистые клетки различные по форме и размеру (плоды рябины); обрывки паренхимы мякоти с оранжево-красными глыбками каротиноидов; группы, реже одиночные каменистые клетки с сильно утолщенными пористыми оболочками; крупные одиночные волоски двух типов - очень крупные прямые с толстой стенкой и узкой полостью и более мелкие, слегка извилистые с широкой полостью (плоды шиповника); обрывки эпидермиса листа с прямоугольными (черешок), извилистыми и сильноизвилистыми стенками и четковидными утолщениями; устьичный аппарат парацитного типа; волоски одноклеточные толстостенные, остроконечные и мелкие сопочки; имеются многоклеточные железки с желто-коричневым содержимым (трава барвинка малого); обрывки эпидермиса листа (слегка извилистые и сильно извилистые клетки; крупные, овальные, погруженные устьица, окруженные 4-5 клетками эпидермиса (аномоцитного типа); простые волоски с тонкими стенками с 1-3 базальными клетками и

ФСП 42- _____ с.9

длинной извилистой конечной клеткой и головчатые волоски, состоящие из одноклеточной ножки и многоклеточной удлинённо-овальной головки, которые располагаются в один или два ряда (травя сушеницы); обрывки эпидермиса с многочисленные простые волоски с тонкими стенками, у основания с 1-2 короткими клетками и длинной конечной клеткой; крупные эфиромасличные железки (травя полыни обыкновенной); обрывки эпидермиса с многоугольными клетками с прямыми стенками или слабоизвилистые; простые волоски с расширенным основанием, многоклеточные, гладкие; головчатые волоски двух типов: на одноклеточной ножке с удлинённой двухклеточной головкой, реже встречаются головчатые волоски на многоклеточной ножке с шарообразной или овальной одноклеточной головкой. В местах прикрепления волосков клетки эпидермиса образуют розетку (листья подорожника большого); обрывки эпидермиса с клетками с сильноизвилистыми стенками; устьичный аппарат диатритного типа; мелкие головчатые волоски, состоящие из короткой одноклеточной ножки и одноклеточной обратнояцевидной головки; крупные эфиромасличные железки с 8 (редко 6) секреторными клетками (листья мяты перечной); обрывки эпидермиса с клетками с извилистыми стенками и сосочковидными выростами; эфиромасличные железки из 6-8 клеток, расположенных в 2 ряда (цветки ромашки); обрывки паренхимы с друзами оксалата кальция; обрывки волокон с кристаллоносной оболочкой из призматических кристаллов; обрывки сетчатых и лестничных сосудов и узких пористых трахеид; обрывки трахеид с окаймленными порами (корни солодки); обрывки эпидермиса с многоугольные или сильноизвилистыми стнками; устьичным аппаратом ананоцитного типа; кристаллоносная оболочка сосудов; простые волоски одноклеточные тонкостенные и зазубренным краем, головчатые волоски на 1-2 клеточной ножке с 1-4 клеточной головкой с прозрачным или светло-бурым содержимым (травя донника).

ФСП 42- _____ с.10



Ув. 10×40



Ув.10×10

Рисунок 1. Фрагмент плодов боярышника (измельченное сырье). 1- Овальные клетки эпидермиса с оранжево-красными включениями (каротиноиды).

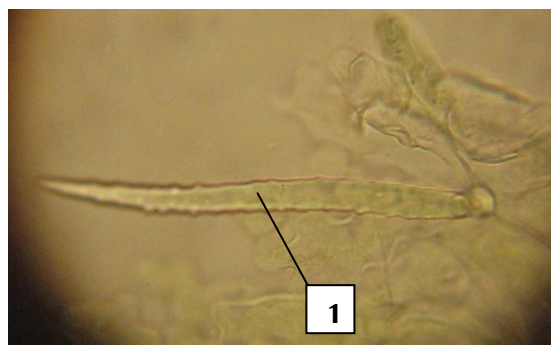


Ув.10×40

Рисунок 2. Фрагмент листа мяты перечной (измельченное сырье). Нижний эпидермис. 1- сильно извилистые клетки эпидермиса; 2- устьичный аппарат диацитного типа; 3- головчатый волосок, состоящий из короткой одноклеточной ножки и одноклеточной обратнойцевидной головки.



Ув. 10×40



Ув.10×40

Рисунок 3. Препарат листа донника лекарственного (измельченное сырье). Верхний эпидермис. 1- простые волоски 1-2 клеточные у основания и одноклеточная конечная с толстостенной оболочкой и зазубренным краем; 2- головчатые волоски на 1-2 клеточной ножке и 1-2 клеточной головкой.

ФСП 42- _____ с.11

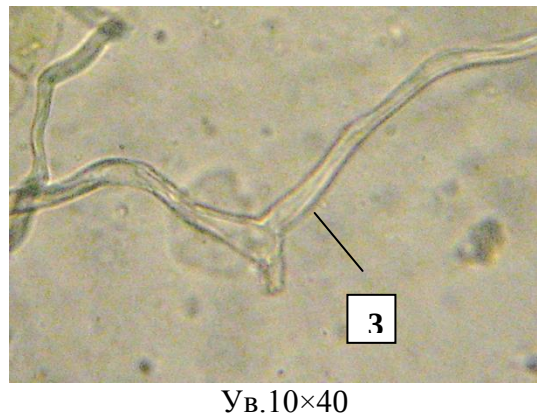
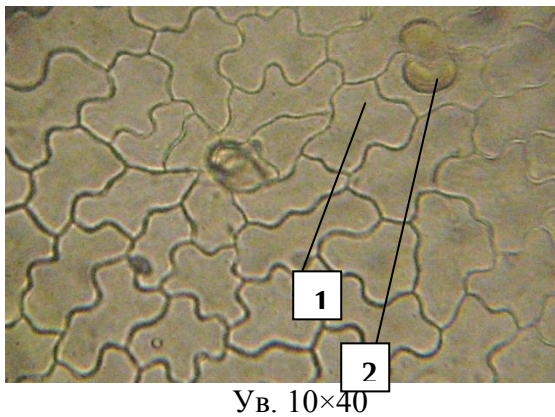


Рисунок 4. Препарат листа полыни обыкновенной (измельченное сырье). 1 - извилистостенный эпидермис, местами образующая складчатую кутикулу, 2 – эфирномасличная железка, 3 – т-образный волосок.

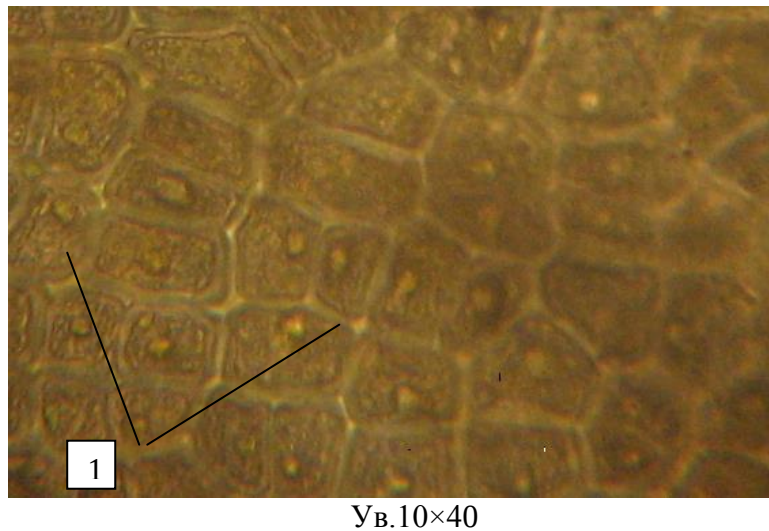


Рисунок 5. Препарат порошка плодов рябины обыкновенной. 1- окончатые клетки наружного эпидермиса с каплями масла желтого цвета.

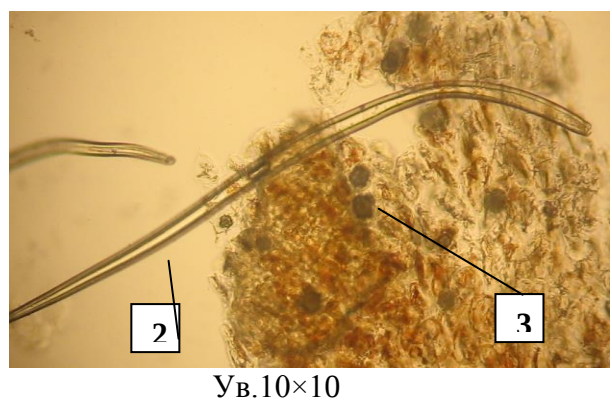
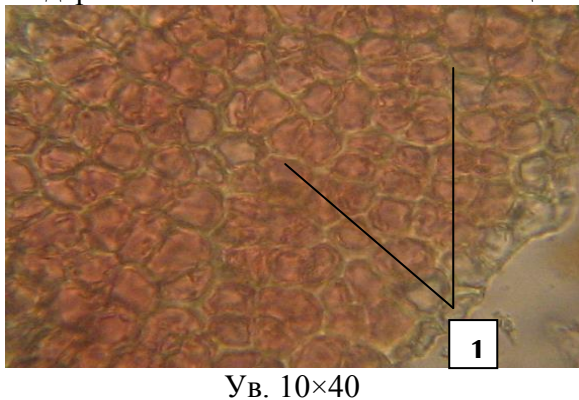
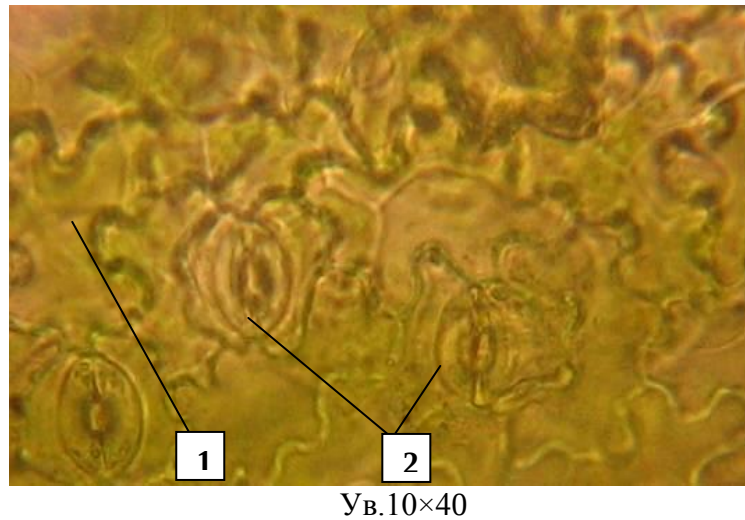


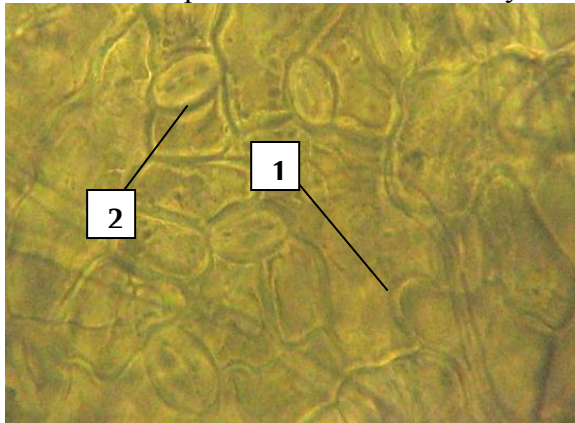
Рисунок 6. Препарат порошка плодов шиповника. Наружный эпидермис. 1- многоугольные клетки с прямыми неодинаково утолщенными, с четковидно-утолщенными стенками, 2 – простые одноклеточные толстостенные волоски, 3 – друзы оксалата кальция.

ФСП 42- _____ с.12

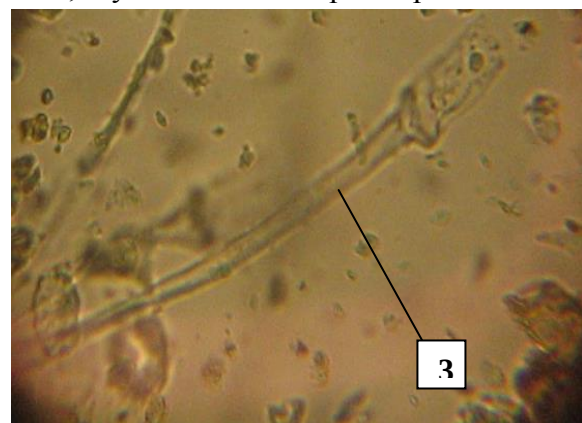


Ув.10×40

Рисунок 7. Фрагмент листа барвинка малого (измельченное сырье). Нижний эпидермис. 1- клетки эпидермиса с четковидными утолщениями; 2-устьичный аппарат парацитного типа.

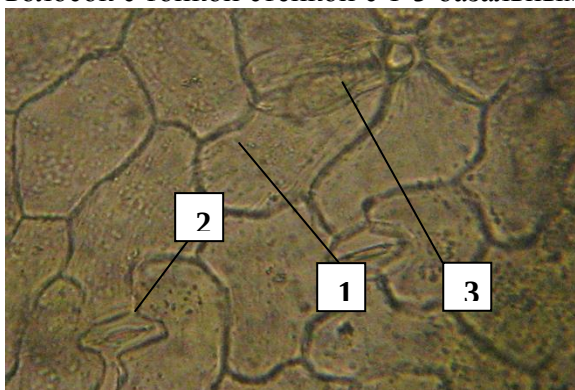


Ув. 10×40

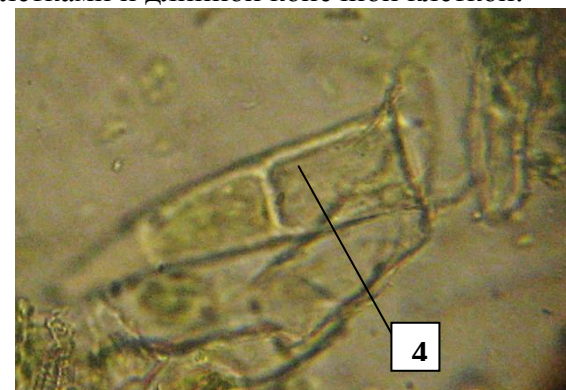


Ув.10×40

Рисунок 8. Препарат листа сушеницы топяной (измельченное сырье). Нижний эпидермис. 1- слегка извилистые клетки эпидермиса; 2- устьичный аппарат аномоцитного типа, 3 – простой волосок с тонкой стенкой с 1-3 базальными клетками и длинной конечной клеткой.



Ув. 10×40



Ув.10×40

Рисунок 9. Препарат листа подорожника (измельченное сырье). Верхний эпидермис. 1- слабо-извилистые клетки эпидермиса, кутикула местами образует складки; 2 – устьичный аппарат

ФСП 42- _____ с.13

аномоцитного типа, 3 -головчатый волосок на одноклеточной ножке с удлиненной двухклеточной головкой, 4 – простой многоклеточный волосок.

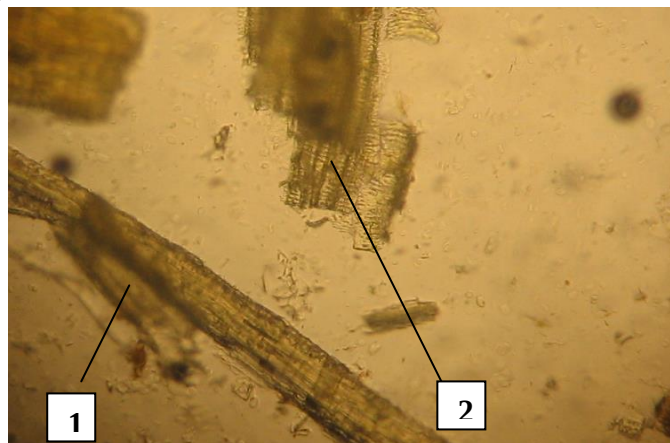


Ув. 10×4



Ув.10×40

Рисунок 10. Фрагмент трубчатого цветка ромашки аптечной с пылью (цельное сырье). 1 – эфиромасличные железы



Ув.10×10

Рисунок 11. Препарат корня солодки (порошок). 1- обрывки волокон с кристаллоносной обкладкой из призматических кристаллов, 2- обрывки сетчатых сосудов.

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография. Около 1,0 г сбора, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещают в колбу вместимостью 50 мл, заливают 10 мл 95% этилового спирта и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 20 мкл испытуемого раствора и по 5

ФСП 42- _____ с.14

мкл 0,05% растворов СО рутина, СО кофейной кислоты и СО хлорогеновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей: этилацетат-муравьиная кислота-уксусная кислота-вода (100:11:11:13), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворителя и просматривают в УФ-свете. На хроматограмме испытуемого раствора при длине волны 365 нм должны обнаруживаться 3 основные зоны адсорбции на уровне СО рутина бурого цвета, на уровне СО кофейной кислоты голубого цвета и на уровне СО хлорогеновой кислоты голубого цвета. Допускается обнаружение дополнительных зон.

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-муравьиная кислота-уксусная кислота-вода (100:11:11:13). Система используется свежеприготовленная. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей в течение 1 часа.
4. Приготовление растворов сравнения.

Раствор СО рутина: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца рутина, 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.

ФСП 42- _____ с.15

Раствор СО кофейной кислоты: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца кофейной кислоты, предварительно высушенного при температуре 110-120°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, предварительно высушенного при температуре 100-105°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этиловом спирте 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 8%.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* -3%.

Измельченность сырья. *Измельченное сырье* - не проходящих сквозь сито 5 мм - не более 10%, проходящих сквозь сито 0,5 мм - не более 4 %. *Порошок для фильтр-пакетов* - частиц, не проходящих сквозь сито 2 мм - не более 8 %, проходящих сквозь сито 0,5 мм - не более 5 %.

Посторонние примеси.

Органическая примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - не более 4,0%.

Минеральная примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - не более 0,5%.

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

ФСП 42- _____ с.16

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, порошок* – содержание флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,3 %.

Приготовление раствора государственного стандартного образца (ГСО) рутина.

Около 0,05 г (точная навеска) ГСО рутина (ФС 42-2508-87), высушенного при температуре 130-140 °С, растворяют при нагревании на водяной бане в 80 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 5%.

9,6 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 укупоренной таре.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1,0 г (точная навеска) сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл и добавляют 100 мл 95% этилового спирта. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 30 мин. Извлечение искусственно охлаждают, фильтруют,

ФСП 42- _____ с.17

избегая попадания частиц на фильтр, в колбу вместимостью 100 мл, отбрасывая первые 15-20 мл фильтрата, доводят объем до метки (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2 мл раствора А, прибавляют 3 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,1 мл 30% уксусной кислоты, доводят объем раствора 95% этиловым спиртом до метки и перемешивают (раствор Б). Через 25 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий 2 мл раствора А, 0,1 мл 30% уксусной кислоты и 95% этиловый спирт до 25 мл.

Параллельно проводили измерение раствора ГСО рутина. Для этого 1 мл 0,05% раствора ГСО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 3 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,1 мл 30% уксусной кислоты, доводят объем раствора 95% этиловым спиртом до метки и перемешивают. Через 25 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора в условиях, описанных выше, используя в качестве раствора сравнения раствор, содержащий 1 мл 0,05% раствора ГСО рутина, 0,1 мл 30% уксусной кислоты и 95% этилового спирта до 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в сборе в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X, %) вычисляют по формуле:

$$C \% = \frac{D \times V_1 \times a_0 \times 100 \times 100}{D_0 \times a \times V_2 \times (100 - W)}, \text{ где}$$

D - оптическая плотность анализируемого раствора;

D₀ - оптическая плотность ГСО рутина;

a₀ - количество ГСО рутина в спектрофотометрируемой пробе, г;

V₁ - объем раствора А, мл;

V₂ - объем извлечения для анализа, мл;

a - навеска сбора, г;

W - потеря в массе при высушивании, %.

ФСП 42- _____ с.18

Определение диагностически значимых признаков. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – содержание диагностически значимых признаков (ДЗП) не менее 45 %.

Аналитическую пробу сбора измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. 1-2 г готового порошка помещают в пробирку, закрывают пробкой и перемешивают содержимое путем многократного переворачивания до получения равномерной смеси. На предметное стекло, размеченное на квадраты (16 квадратов при величине покровного стекла 24х24мм) наносят каплю 5 % раствора натрия гидроксида. Кончик препаравальной иглы обмакивают в каплю раствора натрия гидроксида и погружают в порошок сбора (на глубину 1,5 – 2 мм). Количество порошка на кончике иглы смывают в капле на предметном стекле, накрывают покровным стеклом и прогревают для просветления над пламенем горелки. После охлаждения высасывают фильтровальной бумагой раствор натрия гидроксида, добавляя с другой стороны стекла пипеткой 33% раствор глицерина. Готовый препарат помещают под микроскоп и подсчитывают при увеличении $15\times$, $1,5\times$ 10 (или при другом удобном увеличении) количество диагностически значимых признаков (ДЗП) и незначимых признаков (НЗП) сбора. Диагностически значимыми признаками сбора являются обрывки эпидермиса с четырех-, шестиугольными клетками с окончатými утолщёнными стенками и с желто-бурым содержимым, одиночные склереиды, каменистые клетки (плоды боярышника); обрывки паренхимы с клетками с каротиноидами и одноклеточные волоски; каменистые клетки различные по форме и размеру (плоды рябины); обрывки паренхимы мякоти с оранжево-красными глыбками каротиноидов; группы, реже одиночные каменистые клетки с сильно утолщенными пористыми оболочками; крупные одиночные волоски двух типов - очень крупные прямые с толстой стенкой и узкой полостью и более мелкие, слегка извилистые с широкой полостью

ФСП 42- _____ с.19

(плоды шиповника); обрывки эпидермиса листа с прямоугольными (черешок), извилистыми и сильноизвилистыми стенками и четковидными утолщениями; устьичный аппарат парацитного типа; волоски одноклеточные толстостенные, остроконечные и мелкие сосочки; имеются многоклеточные железки с желто-коричневым содержимым (трава барвинка малого); обрывки эпидермиса листа (слегка извилистые и сильно извилистые клетки); крупные, овальные, погруженные устья, окруженные 4-5 клетками эпидермиса (аномоцитный тип); простые волоски с тонкими стенками с 1-3 базальными клетками и длинной извилистой конечной клеткой и головчатые волоски, состоящие из одноклеточной ножки и многоклеточной удлинено-овальной головки, которые располагаются в один или два ряда (трава сушеницы); обрывки эпидермиса с многочисленными простыми волосками с тонкими стенками, у основания с 1-2 короткими клетками и длинной конечной клеткой; крупные эфиромасличные железки (трава полыни обыкновенной); обрывки эпидермиса с многоугольными клетками с прямыми стенками или слабоизвилистыми; простые волоски с расширенным основанием, многоклеточные, гладкие; головчатые волоски двух типов: на одноклеточной ножке с удлинённой двухклеточной головкой, реже встречаются головчатые волоски на многоклеточной ножке с шарообразной или овальной одноклеточной головкой (листья подорожника большого); обрывки эпидермиса с клетками с сильноизвилистыми стенками; устьичный аппарат диацитного типа; мелкие головчатые волоски, состоящие из короткой одноклеточной ножки и одноклеточной обратнойцевидной головки; крупные эфиромасличные железки (листья мяты перечной); обрывки эпидермиса с клетками с извилистыми стенками и сосочковидными выростами; эфирномасличные железки из 6-8 клеток (цветки ромашки); обрывки паренхимы с друзами оксалата кальция; обрывки волокон с кристаллоносной обкладкой из призматических кристаллов; обрывки сетчатых и лестничных сосудов и узких пористых трахеид; обрывки трахеид с окаймленными порами (корни солодки); обрывки эпидермиса с многоугольными или сильноизвилистыми стенками; устьич

ФСП 42- _____ с.20

ным аппаратом аномоцитного типа; кристаллоносная обкладка сосудов; простые волоски одноклеточные тонкостенные и зазубренным краем, головчатые волоски на 1-2 клеточной ножке с 1-4 клеточной головкой с прозрачным или светло-бурым содержимым (травя донника). При рассмотрении пробы порошка сбора подсчитывают одновременно диагностически значимые и диагностически незначимые частицы (НЗП). Количество диагностически значимых частиц (%) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{ДЗП \cdot 100\%}{ЗП + НЗП}, \text{ где}$$

ДЗП – количество в микропрепарате диагностически значимых признаков;

НЗП – количество незначимых анатомических признаков в микропрепарате.

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».

ФСП 42- _____ с.21

Срок годности. 3года.

Фармакологическая группа. Корректоры нарушений мозгового кровообращения растительного происхождения.

Проректор по научной и
инновационной работе
ГБОУ ВПО «Башкирский
государственный медицинский
университет»
Минздрава России



В.А.Катаев

” _____ 20__ г.

Генеральный директор ООО
«Травы Башкирии»



А.А.Иванов

“ ” _____ 20__ г.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Директор ЦФиМС ФГБУ
«Научного центра экспертизы средств
медицинского применения» Минздрава России
_____ Е.И. Саканян
"___" _____ 20__ г.

СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ПРОЕКТ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ ПРЕДПРИЯТИЯ

Производитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Заявитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Разработчик: ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России

«Ангиофит-НМК» жидкий экстракт	ФСП 42-XXXX-XX
«<i>Angiophytum-NMK</i>» <i>fluidum extractum</i>	Вводится впервые

Срок введения установлен

«___» _____ 20__ года

Срок действия до

«___» _____ 20__ года

Настоящая фармакопейная статья распространяется на жидкий экстракт 1:1, получаемый из сбора «Ангиофит».

Для получения жидкого экстракта необходимо:

Сбора «Ангиофит-НМК» - 1000 г

Спирта этилового (этаноло) 40 %

(по массе) - 1000 г

Примечание

Получение жидкого экстракта 1:1 осуществляют методом перколяции ОФС «Экстракты».

ФСП 42- _____ с.2

Показатели качества	Методы испытания	Нормы
1	2	3
<i>Описание</i>	Визуальный, органо- лептический, ГФ XI	Соответствует ФСП
<i>Качественные реакции</i>	1. ТСХ 2. К 1 мл, жидкого экстракта, разведенно- го до 10 мл 40% этило- вым спиртом, прибав- ляют 1 мл 5% спирто- вого раствора алюми- ния хлорида, появляет- ся желто-зеленое окра- шивание	Соответствует ФСП
<i>Числовые показатели:</i> Содержание флавоноидов в пересчете на рутин % рН Содержание тяжелых ме- таллов, % Сухой остаток, % Плотность	Дифференциальная спектрофотометрия ГФ XI, вып. 1 ОФС ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1	Не менее 0,6 6,5 0,001 Не менее 18 От 1,010 до 1,080
<i>Микробиологическая Чистота</i>	ГФ XII, ст.32	Соответствует катего- рии 4А

ФСП 42- _____ с.3

<i>Упаковка</i>		Во флаконы темного стекла по 25 мл с навинчивающимися полиэтиленовыми крышками и в картонную упаковку.
<i>Маркировка</i>		Соответствует ФСП
<i>Транспортирование</i>		
<i>Хранение</i>		В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 15°C
<i>Срок годности</i>		4 года
<i>Фармакологическая группа</i>		Корректоры нарушений мозгового кровообращения растительного происхождения

Описание. Жидкость красновато-бурого цвета, с ароматным запахом и сладковато-горьким вкусом

Подлинность.

Приготовление растворов.

Раствор СО рутина: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца рутина, 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. Срок годности раствора 1 месяц.

Раствор СО кофейной кислоты: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца кофейной кислоты, предварительно высушенного при температуре 110-120°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. Срок годности раствора 1 месяц.

Раствор СО хлорогеновой кислоты: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца хлорогеновой кислоты, предварительно высушенного при температуре

ФСП 42- _____ с.4

100-105°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этиловом спирте в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 месяц.

Приготовление раствора алюминия хлорида 5%. 9,6 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 укупоренной таре.

1. Тонкослойная хроматография

1. На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 10 мкл испытуемого раствора и по 5 мкл 0,05% растворов СО рутина, СО кофейной кислоты и СО хлорогеновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей: этилацетат-муравьиная кислота-уксусная кислота-вода (100:11:11:13), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворителя и просматривают в УФ-свете. На хроматограмме испытуемого раствора при длине волны 365 нм должны обнаруживаться 3 основные зоны адсорбции на уровне СО рутина бурого цвета, на уровне СО кофейной кислоты голубого цвета и на уровне СО хлорогеновой кислоты голубого цвета. Допускается обнаружение дополнительных зон.

2. К 1 мл, жидкого экстракта, разведенного до 10 мл 40% этиловым спиртом, прибавляли 1 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида. Раствор приобретал желто-зеленую окраску (флавоноиды).

Сухой остаток. Не менее 18 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

Плотность. От 1,010 до 1,080. В соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

ФСП 42- _____ с.5

Тяжелые металлы. Не более 0,001 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. По микробиологической чистоте должна соответствовать категории 3,2. Испытания проводят в соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. Около 2 г (точная навеска) жидкого экстракта помещают в мерную колбу на 100 мл и доводят до метки 95% этиловым спиртом (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2 мл раствора А, прибавляют 3 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,1 мл 30% уксусной кислоты, доводят объем раствора 95% этиловым спиртом до метки и перемешивают (раствор Б). Через 25 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий 2 мл раствора А, 0,1 мл 30% уксусной кислоты и 95% этиловый спирт до 25 мл.

Параллельно проводили измерение раствора ГСО рутина. Для этого 1 мл 0,05% раствора ГСО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 3 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,1 мл 30% уксусной кислоты, доводят объем раствора 95% этиловым спиртом до метки и перемешивают. Через 25 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора в условиях, описанных выше, используя в качестве раствора сравнения раствор, содержащий 1 мл 0,05% раствора ГСО рутина, 0,1 мл 30% уксусной кислоты и 95% этилового спирта до 25 мл. Содержание суммы флавоноидов в жидком экстракте в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X, %) вычисляют по формуле:

$$C \% = \frac{D \times V_1 \times a_0 \times 100}{D_0 \times a \times V_2}, \text{ где}$$

D -оптическая плотность анализируемого раствора;

D₀ - оптическая плотность ГСО рутина;

ФСП 42- _____ с.6

$a_{\text{в}}$ - количество СО рутина в спектрофотометрируемой пробе, г;

V_1 - объём раствора А, мл;

V_2 - объём извлечения для анализа, мл;

α - навеска экстракта, г;

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин должно быть не менее 0,6 %.

Упаковка. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты». Упаковка должна обеспечивать стабильность при транспортировании и хранении в течение установленного срока годности.

Маркировка. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

Хранение. В защищенном от света месте при температуре от 8 до 15 °С.

Срок годности. 4 года.

Фармакологическая группа. Корректоры нарушений мозгового кровообращения растительного происхождения.

Проректор по научной и
инновационной работе
ГБОУ ВПО «Башкирский
государственный медицинский
университет»

Минздрава России



В.А.Катаев

” апрель 2014 г.

Генеральный директор ООО
«Травы Башкирии»



А.А.Иванов

” апрель 2014 г.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Директор ЦФиМС ФГБУ
«Научного центра экспертизы средств
медицинского применения» Минздрава России
_____ Е.И. Саканян
"___" _____ 20__ г.

СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ПРОЕКТ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ ПРЕДПРИЯТИЯ

Производитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Заявитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Разработчик: ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России

«Кардиофит-ИБС» жидкий экстракт	ФСП 42-XXXX-XX
«<i>Cardiophytum-IBS</i>» <i>fluidum extractum</i>	Вводится впервые

Срок введения установлен

«___» _____ 20__ года

Срок действия до

«___» _____ 20__ года

Настоящая фармакопейная статья распространяется на жидкий экстракт 1:1, получаемый из сбора «Кардиофит».

Для получения жидкого экстракта необходимо:

Сбора «Кардиофит-ИБС» - 1000 г

Спирта этилового (этаноло) 40 %
(по массе) - 1000 г

ФСП 42- _____ с.2

Примечание

Получение жидкого экстракта 1:1 осуществляют методом перколяции ОФС «Экстракты».

Показатели качества	Методы испытания	Нормы
1	2	3
<i>Описание</i>	Визуальный, органо- лептический, ГФ XI	Соответствует ФСП
<i>Качественные реакции</i>	3. ТСХ 4. К 1 мл, жидкого экстракта, разведенно- го до 10 мл 40% этило- вым спиртом, прибав- ляют 1 мл 5% спирто- вого раствора алюми- ния хлорида, появляет- ся желто-зеленое окра- шивание	Соответствует ФСП
<i>Числовые показатели:</i> Содержание флавоноидов в пересчете на рутин %	Дифференциальная спектрофотометрия	Не менее 0,3
рН	ГФ XI, вып. 1	5,4
Содержание тяжелых ме- таллов, %	ОФС	0,001
Сухой остаток, %	ГФ XI, вып. 1	Не менее 20
Плотность	ГФ XI, вып. 1	От 1,080 до 1,140
<i>Микробиологическая Чистота</i>	ГФ XII, ст.32	Соответствует катего- рии 4А

ФСП 42- _____ с.3

<i>Упаковка</i>		Во флаконы темного стекла по 25 мл с навинчивающимися полиэтиленовыми крышками и в картонную упаковку.
<i>Маркировка</i>		Соответствует ФСП
<i>Транспортирование</i>		
<i>Хранение</i>		В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 15°C
<i>Срок годности</i>		4 года
<i>Фармакологическая группа</i>		Антиангинальное средство растительного происхождения

Описание. Жидкость красновато-коричневого цвета с характерным запахом и горьковатым вкусом.

Подлинность.

Приготовление растворов.

Раствор СО рутина: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца рутина, предварительно высушенного при температуре 130-140°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл этилового спирта 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом 95 % до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 месяц.

Раствор СО гиперозида: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца гиперозида, предварительно высушенного при температуре 100-105°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл этилового спирта 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом 95 % до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 месяц.

Раствор СО кверцетина: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца кверцетина, предварительно высушенного при температуре 130-135°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл этилового спирта 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом 95 % до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 месяц.

ФСП 42- _____ с.4

Приготовление раствора алюминия хлорида 5%. 9,6 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 укупоренной таре.

1. Тонкослойная хроматография

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 10 мкл испытуемого раствора и по 5 мкл 0,05% растворов СО рутина, СО гиперозида и СО кверцетина. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей: этилацетат – муравьиная кислота - вода (8:1:1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворителя и просматривают в УФ-свете. На хроматограмме испытуемого раствора при длине волны 365 нм должны обнаруживаться 3 основные зоны адсорбции на уровне СО рутина бурого цвета, на уровне СО гиперозида бурого цвета и на уровне СО кверцетина желтого цвета. Допускается обнаружение дополнительных зон.

1. К 1 мл, жидкого экстракта, разведенного до 10 мл 40 % этиловым спиртом, прибавляли 1 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида. Раствор приобретал желто-зеленую окраску (флавоноиды).

Сухой остаток. Не менее 20 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

Плотность. От 1,080 до 1,140. В соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

Тяжелые металлы. Не более 0,001 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном

ФСП 42- _____ с.5

растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. По микробиологической чистоте должна соответствовать категории 3,2. Испытания проводят в соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. Около 4 г (точная навеска) жидкого экстракта помещают в мерную колбу на 100 мл и доводят до метки 40 % этиловым спиртом (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 4 мл раствора А, прибавляют 2 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,05 мл разведённой хлористоводородной кислоты, доводят объём раствора 95% этиловым спиртом до метки и перемешивают (раствор В). Через 25 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 402 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий 4 мл раствора А, 0,05 мл разведённой хлористоводородной кислоты и 95% этиловый спирт до 25 мл.

Параллельно проводили измерение раствора ГСО рутина. Для этого 1 мл 0,05% раствора ГСО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,05 мл разведённой хлористоводородной кислоты, доводят объём раствора 95% этиловым спиртом до метки и перемешивают. Через 25 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора в условиях, описанных выше, используя в качестве раствора сравнения раствор, содержащий 1 мл 0,05% раствора ГСО рутина, 0,05 мл разведённой хлористоводородной кислоты и 95% этилового спирта до 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в жидком экстракте в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X, %) вычисляют по формуле:

$$C \% = \frac{D \times V_1 \times a_0 \times 100}{D_0 \times a \times V_2}, \text{ где}$$

D -оптическая плотность анализируемого раствора;

ФСП 42- _____ с.6

- D_0 - оптическая плотность СО рутина;
 a_0 - количество СО рутина в спектрофотометрируемой пробе, г;
 V_1 - объём раствора А, мл;
 V_2 - объём извлечения для анализа, мл;
 α - навеска экстракта, г;

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин должно быть не менее 0,3 %.

Упаковка. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты». Упаковка должна обеспечивать стабильность при транспортировании и хранении в течение установленного срока годности.

Маркировка. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

Хранение. В защищенном от света месте при температуре от 8 до 15 °С.

Срок годности. 4 года.

Фармакологическая группа. Антиангинальное средство растительного происхождения.

Проректор по научной и
 инновационной работе
 ГБОУ ВПО «Башкирский
 государственный медицинский
 университет»
 Минздрава России




 _____ В.А.Катаев
 _____ 20/14 г.

Генеральный директор ООО
 «Травы Башкирии»




 _____ А.А.Иванов
 _____ 20/14 г.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Директор ЦФиМС ФГБУ
«Научного центра экспертизы средств
медицинского применения» Минздрава России
_____ Е.И. Саканян
"___" _____ 20__ г.

СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ПРОЕКТ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ ПРЕДПРИЯТИЯ

Производитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Заявитель: ООО «Травы Башкирии», г.Уфа

Разработчик: ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский универси-
тет Минздрава России

Боярышника кроваво-красного листьев

густой экстракт

ФСП 42-XXXX-XX

Crataegi sanguineae foliae spissum extractum

Вводится впервые

Срок введения установлен

«___» _____ 20__ года

Срок действия до

«___» _____ 20__ года

Настоящая фармакопейная статья распространяется на густой экстракт, по-
лучаемый из листьев боярышника кроваво-красного.

Для получения густого экстракта необходимо:

ФСП 42- _____ с.2

Листьев боярышника кроваво-красного - 100 г

Воды очищенной - 1200 мл

Спирта этилового (этанола) 40 %

(по массе) - 1200 г

Спирта этилового (этанола) 80 %

(по массе) - 1600 г

Примечание

Получение густого экстракта осуществляют методом мацерации ОФС «Экстракты».

Показатели качества	Методы испытания	Нормы
1	2	3
<i>Описание</i>	Визуальный, органо-лептический, ГФ XI	Соответствует ФСП
<i>Качественные реакции</i>	1. 1 мл препарата разводят до 10 мл спиртом этиловым 80 % и прибавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида, появляется желто-зеленое окрашивание.	Соответствует ФСП
<i>Числовые показатели:</i> Содержание флавоноидов в пересчете на рутин % рН Содержание тяжелых металлов, % Влажность, %	Дифференциальная спектрофотометрия ГФ XI, вып. 1 ОФС ГФ XI, вып. 1	Не менее 5,8 6,3 0,001 Не более 25
<i>Микробиологическая Чистота</i>	ГФ XII, ст.32	Соответствует категории 4А

ФСП 42- _____ с.3

<i>Упаковка</i>		Во флаконы темного стекла по 25 мл с навинчивающимися полиэтиленовыми крышками и в картонную упаковку.
<i>Маркировка</i>		Соответствует ФСП
<i>Транспортирование</i>		
<i>Хранение</i>		В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 15°C
<i>Срок годности</i>		3 года
<i>Фармакологическая группа</i>		Антиангинальное средство растительного происхождения

Описание. Вязкая жидкость темно-коричневого цвета, со специфическим пряным запахом и сладковато-горьковатым вкусом.

Подлинность.

Приготовление растворов.

Раствор СО рутина: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца рутина, предварительно высушенного при температуре 130-140°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл этилового спирта 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом 95 % до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 месяц.

Раствор СО гиперозида: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца гиперозида, предварительно высушенного при температуре 100-105°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл этилового спирта 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом 95 % до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 месяц.

Раствор СО хлорогеновой кислоты: около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца хлорогеновой кислоты, предварительно высушенного при температуре 100-105°C в течение 3 часов, растворяют в 85 мл этилового спирта 95% в

ФСП 42- _____ с.4

мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом 95 % до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 месяц.

Приготовление раствора алюминия хлорида 3%. 5,4 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 укупоренной таре.

1. Тонкослойная хроматография

1. 1 г густого экстракта растворить в 10 мл этилового спирта 80 %. На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 10 мкл испытуемого раствора и по 5 мкл 0,05% растворов СО рутина, СО гиперозида и СО хлорогеновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей: этилацетат – муравьиная кислота - вода (14:3:3), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворителя и просматривают в УФ-свете. На хроматограмме испытуемого раствора при длине волны 365 нм должны обнаруживаться 3 основные зоны адсорбции на уровне СО рутина бурого цвета, на уровне СО гиперозида бурого цвета и на уровне СО хлорогеновой кислоты голубого цвета. Допускается обнаружение дополнительных зон.

К 1 г препарата, разведенного до 10 мл 80% этиловым спиртом, прибавляли 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида. Раствор приобретал желто-зеленую окраску (флавоноиды).

Влажность. Не более 25 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

ФСП 42- _____ с.5

Тяжелые металлы. Не более 0,001 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. По микробиологической чистоте должна соответствовать категории 3,2. Испытания проводят в соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. Около 0,5 г (точная навеска) густого экстракта помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят до метки 80 % этиловым спиртом (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 3 мл раствора А, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,1 мл 30% уксусной кислоты, доводят объем раствора 95% этиловым спиртом до метки и перемешивают (раствор Б). Через 25 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 409 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий 3 мл раствора А, 0,1 мл 30% уксусной кислоты и 95% этиловый спирт до 25 мл.

Параллельно проводят измерение раствора ГСО рутина. Для этого 1 мл 0,05% раствора ГСО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 3 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида, 0,1 мл 30% уксусной кислоты, доводят объем раствора 95% этиловым спиртом до метки и перемешивают. Через 25 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора в условиях, описанных выше, используя в качестве раствора сравнения раствор, содержащий 1 мл 0,05% раствора ГСО рутина, 0,1 мл 30% уксусной кислоты и 95% этилового спирта до 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в густом экстракте в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X, %) вычисляют по формуле:

формуле:

$$C \% = \frac{D \times V_1 \times a_0 \times 100}{D_0 \times a \times V_2}, \text{ где}$$

D - оптическая плотность анализируемого раствора;

D_0 - оптическая плотность СО рутин;

a_0 - количество СО рутин в спектрофотометрируемой пробе, г;

V_1 - объём раствора А, мл;

V_2 - объём извлечения для анализа, мл;

a - навеска экстракта, г;

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин должно быть не менее 5,8 %.

Упаковка. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты». Упаковка должна обеспечивать стабильность при транспортировании и хранении в течение установленного срока годности.

Маркировка. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

Хранение. В защищенном от света месте при температуре от 8 до 15 °С.

Срок годности. 3 года.

Фармакологическая группа. Антиангинальное средство растительного происхождения.

Проректор по научной и
инновационной работе

ГБОУ ВПО «Башкирский
государственный медицинский
университет» Минздрава России



В.А.Катаев

2014 г.

Генеральный директор ООО
«Травы Башкирии»



А.А.Иванов

2015 г.

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ГБОУ ВПО БГМУ

Минздрава России, профессор

Павлов В.Н.

2014 г.



ИНСТРУКЦИЯ
ПО СБОРУ И СУШКЕ ЛИСТЬЕВ
БОЯРЫШНИКА КРОВАВО-КРАСНОГО

Боярышник кроваво-красный *Crataegus sanguinea* Pall. – высокий кустарник, реже небольшое дерево высотой 1-4 м. Побеги крепкие, пурпурно-коричневые, несут прямые колючки, достигающие 5 см длины. Листья обратнояйцевидные, трех-семилопастные, с обеих сторон волосистые. Сверху темно-зеленой окраски, по краю остропильчатые с клиновидным основанием. Снизу листья светло-зеленые. Цветки белые, слегка розоватые, диаметром 12-15 мм, в густом щитковидном соцветии, насчитывают около 20 тычинок с пурпуровыми пыльниками. Соцветия 3-4 см длиной и 4-5 см шириной. Плоды – диаметром 8-10 мм, обычно округлые, кроваво-красные, очень редко оранжево-желтые, с 2-4 (1-5) косточками и мучнистой мякотью. Цветет боярышник кроваво-красный в мае-июне, плоды созревают в августе.



Рис.1. Боярышник кроваво-красный

Боярышник кроваво-красный имеет евразийский тип ареала. Растет в разреженных лесах, по лесным опушкам и берегам рек в лесостепной и южной части лесной зоны Западной и Восточной Сибири, восточных районах европейской части СНГ, Забайкалье и частично в Восточном Казахстане, Средней Азии, Китае и Монголии. Довольно часто этот вид боярышника встречается на Южном Урале, в Закамье и Заволжье. В Башкирии он распространен в основном в лесостепной и степной зонах. Часто встречается в лесостепи Предуралья: на северо-западе в Янаульском, Дюртюлинском районах; в западной и центральной части республики (Буздякский, Давлекановский, Чишминский, Иглинский и др.), главным образом в поймах

рек Белой, Уршака, Демы и др. Изредка боярышник кроваво-красный встречается в Зауралье по склонам холмов – в Учалинском и Баймакском районах. Его произрастание отмечено также в районах западных предгорий Южного Урала (Зилаирский, Гафурийский, Зианчуринский, Кугарчинский районы). Очень редко встречается под пологом леса, по его опушкам на северо-востоке республики (Белокатайский, Салаватский районы).

В качестве лекарственного сырья используют листья. Основные заготовки листьев боярышника кроваво-красного проводят в мае во время цветения растения. Листья срезают ножом или обдирают вручную и рыхло укладывают в проветриваемую тару (корзины, тканевые мешки). В течение двух часов доставляют к месту сушки. Используют естественную воздушно-теневую сушку, раскладывая сырье на бумаге или ткани не толще 3-5 см по навесам или чердакам с хорошей вентиляцией. Допускается искусственная сушка в сушилках барабанного или конвейерного типа при температуре 50-60°C. Выход сырья составляет около 20-25% от массы свежесобранного сырья. После сушки из листьев боярышника кроваво-красного удаляют остатки стеблей, цветков, а также листьев, утративших естественную окраску, и посторонние примеси.

Готовое лекарственное растительное сырье боярышника кроваво-красного должно соответствовать следующим требованиям проекта ФС: листья с прилистниками или без них, простые, короткочерешковые, длиной 2-6 см, шириной 2-8 см, яйцевидные с ширококлиновидным основанием, более или менее глубоко-лопастные с крупнозубчатым краем. Жилкование перисто-краевое. Жилки зеленые, выдаются с нижней стороны листа. Цвет листьев зеленый с верхней стороны и светло-зеленый - с нижней. В месте прикрепления черешка по два прилистника несимметричной серповидной формы, с мелкопильчатым краем, цвет прилистников - зеленый с верхней стороны, и светло-зеленый с нижней. Жилкование прилистников перисто-краевое. Запах слабый. Вкус водного извлечения слабо-горьковатый.

Числовые показатели: содержание флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,5%, ДЗП не менее 30%, влажность не более 10%, золы общей не более 10%, частиц, не проходящих сквозь сито 4,5 мм не более 10%, частиц, проходящих сквозь сито 0,5 мм не более 4%, органической примеси не более 1%, минеральной примеси не более 0,5%.

Высушенные листья боярышника кроваво-красного упаковывают в тюки по 15 кг. Хранят на стеллажах в сухом, хорошо проветриваемом помещении, защищенном от прямых солнечных лучей месте. Срок годности сырья – 3 года.

Листья боярышника кроваво-красного применяют в качестве антиаритмического, кардиотропного и антиоксидантного средства.

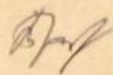
Инструкцию составили:

Заочный аспирант кафедры

фармакогнозии с курсом

ботаники и основ фитотерпии

ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России



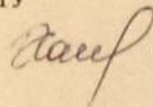
С.В. Трофимова

Доцент кафедры

фармакогнозии с курсом ботаники

и основ фитотерпии ГБОУ ВПО БГМУ

Минздрава России, к.фарм.н.



С.Р. Хасанова

Генеральному директору ФГБУ
«Научный Центр Экспертизы
средств медицинского
применения»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
Миронову А.Н.

127051, Россия, г. Москва,
Петровский бульвар, 8

Уважаемый Александр Николаевич!

Направляем Вам проект фармакопейной статьи предприятия «Боярышника кроваво-красного листа», разработанный ООО «Травы Башкирии» совместно с кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения» Российской Федерации.

Приложение:

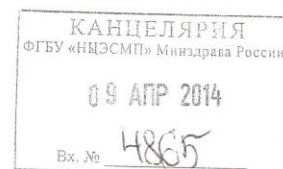
- проект ФСП с пояснительной запиской – 4 экземпляра,
- диск с электронной версией проекта ФС.

Генеральный директор
ООО «Травы Башкирии»



А.А. Иванов

Исполнитель
Кудашкина Н.В.
89177577426



УТВЕРЖДАЮ

Директор «Фитоцентр Гордеева»

 Гордеев М.В.

«___» _____ 2015 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов диссертационной работы Хасановой Светланы Рашитовны
 «Экспериментально-теоретическое обоснование создания и стандартизации лекарственных
 растительных препаратов с антиоксидантной активностью»,
 представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности
 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия,
 в работу «Фитоцентра Гордеева»

Комиссия в составе заведующей производством «Фитоцентр Гордеева» Савочки Ольги
 Алексеевны, начальника ОКК «Фитоцентр Гордеева» Браженко Беллы Михайловны составили
 настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Хасановой Светланы Рашитовны
 внедрены в работу «Фитоцентра Гордеева».

Предприятием осуществлен опытный выпуск разработанных Хасановой С.Р. сборов в качестве
 чайных напитков.

Разработанные методики качественного и количественного анализа разработанных сборов и
 листьев боярышника кроваво-красного апробированы в работе предприятия. Методики являются
 нетрудоемкими, экспрессными, легко воспроизводимыми и статистически достоверными.

Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Хасановой С.Р.
 способствует увеличению количества отечественных эффективных растительных средств и
 повышению объективности анализа лекарственного растительного сырья и препаратов на их основе.

Зав. производством «Фитоцентр Гордеева»

Начальник ОКК «Фитоцентр Гордеева»

 Савочка О.А.

Браженко Б.М.

450103, г. Уфа, ул. Г. Амантая, д. 4



УТВЕРЖДАЮ

Директор ГБУЗ «Лекконтроль»

Мулюкова Т.Ф.

2015 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

**результатов диссертационной работы Хасановой Светланы Рашитовны
«Экспериментально-теоретическое обоснование создания и стандартизации
лекарственных растительных препаратов с антиоксидантной активностью»
представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по
специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия
в работу Государственного бюджетного учреждения здравоохранения
«Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных
средств»**

Комиссия в составе директора Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» (ГБУЗ «Лекконтроль») Мулюковой Т.Ф., провизора-аналитика Диановой И.С., провизора-аналитика Хисаевой А.З. составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Хасановой Светланы Рашитовны внедрены в работу ГБУЗ «Лекконтроль». Разработанные методики качественного и количественного анализа разработанных сборов и листьев боярышника кроваво-красного апробированы в работе предприятия. В основе разработанных методик лежит унифицированный подход к анализу лекарственного растительного сырья: качественный анализ с использованием хроматографических проб методом ТСХ и количественное определение флавоноидов с использованием спектрофотометрической методики с комплексообразующей добавкой в пересчёте на рутин. Методики являются нетрудоемкими, экспрессными, легко воспроизводимыми и статистически достоверными.

Внедрение результатов диссертационного исследования Хасановой С.Р. будет способствовать оптимизации анализа лекарственного растительного сырья и препаратов на их основе.

Директор ГБУЗ «Лекконтроль»

Т.Ф. Мулюкова

Провизор-аналитик ГБУЗ «Лекконтроль»

И.С. Дианова

Провизор-аналитик ГБУЗ «Лекконтроль»

А.З. Хисаева

450106, г.Уфа, ул. Батырская, 39в

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ГБОУ ВПО БГМУ

Минздрава России, профессор

Павлов В.Н.

« » 2015 г.**АКТ ВНЕДРЕНИЯ**

результатов диссертационной работы Хасановой Светланы Рашитовны «Экспериментально-теоретическое обоснование создания и стандартизации лекарственных растительных препаратов с антиоксидантной активностью», представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия в учебную работу кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

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

члены комиссии: профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, д.фарм.н Пупыкина К.А., доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, к.фарм.н. Файзуллина Р.Р. составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Хасановой Светланы Рашитовны «Разработка и стандартизация фитопрепаратов на основе природных антиоксидантов лекарственных растений при сердечно-сосудистых заболеваниях» внедрены в учебный и научно-исследовательский процесс кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3) и применяются при изучении вопросов качественного и количественного анализа сборов и при разработке методов стандартизации лекарственного растительного сырья и средств растительного происхождения.

Председатель комиссии

Н.В. Кудашкина

Члены комиссии:

К.А. Пупыкина

Р.Р. Файзуллина

450000, г.Уфа, ул.Ленина, 3

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ГБОУ ВПО БГМУ

Минздрава России, профессор

Павлов В.Н.

2015 г.

**АКТ ВНЕДРЕНИЯ**

результатов диссертационной работы Хасановой Светланы Рашитовны «Экспериментально-теоретическое обоснование создания и стандартизации лекарственных растительных препаратов с антиоксидантной активностью», представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия в учебную работу кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Комиссия в составе: председатель - заведующий кафедрой фармацевтической химии с курсом токсикологической и аналитической химии, д.фарм.н., профессор Халиуллин Ф.А.

члены комиссии: профессор кафедры фармацевтической химии с курсом токсикологической и аналитической химии, д.фарм.н Клен Е.Э., старший преподаватель кафедры фармацевтической химии с курсом токсикологической и аналитической химии, к.фарм.н. Шарипов И.М. составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Хасановой Светланы Рашитовны «Разработка и стандартизация фитопрепаратов на основе природных антиоксидантов лекарственных растений при сердечно-сосудистых заболеваниях» внедрены в учебный процесс кафедры Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3) и применяются у студентов 3 и 4 курса фармацевтического факультета при изучении вопросов качественного и количественного анализа природных соединений группы флавоноидов.

Председатель комиссии

Ф.А. Халиуллин

Члены комиссии:

Е.Э. Клен

И.М. Шарипов

450000, г.Уфа, ул.Ленина, 3

УТВЕРЖДАЮ



Директор ООО «Травы Башкирии»

Иванов А.А.

«*сентябрь*» 201*4* г.**АКТ ВНЕДРЕНИЯ**

**результатов диссертационной работы Хасановой Светланы Рашитовны
«Экспериментально-теоретическое обоснование создания и стандартизации
лекарственных растительных препаратов с антиоксидантной активностью»
представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по
специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия
в работу ООО «Травы Башкирии»**

Комиссия в составе начальника производства ООО «Травы Башкирии» Шпакова Александра Анатольевича и главного технолога ООО «Травы Башкирии» Халиковой Розы Идиятулловны, составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Хасановой Светланы Рашитовны внедрены в работу ООО «Травы Башкирии». Разработанные методики качественного и количественного анализа разработанных сборов и листьев боярышника кроваво-красного апробированы в работе предприятия. В основе качественного анализа новых растительных средств предложена методика с использованием ТСХ и количественное определение флавоноидов с использованием спектрофотометрии с комплексообразующей добавкой в пересчете на рутин. Методики являются нетрудоемкими, экспрессными, легко воспроизводимыми и статистически достоверными.

Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Хасановой С.Р. будет способствовать повышению объективности анализа лекарственного растительного сырья и препаратов на их основе.

Начальник производства ООО «Травы Башкирии»

Шпаков А.А.

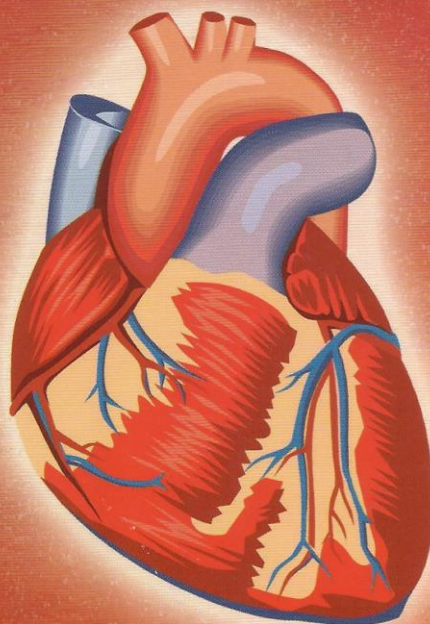
Главный технолог ООО «Травы Башкирии»

Халикова Р.И.



БИБЛИОТЕКА
ПРАКТИКУЮЩЕГО
ВРАЧА

ФИТОТЕРАПИЯ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ



УФА 2010

УДК 616.12-07

ББК 54.10

Ф 64

Рецензенты:

Загидуллин Ш.З. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой преподавания внутренних болезней с курсом физиотерапии БГМУ

Крюкова А.Я. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой поликлинической терапии БГМУ.

Фитотерапия при артериальной гипертензии/ Хасанова С.Р., Кудашкина Н.В., Пупыкина К.А., Сахаутдинова Г.М., Яковлева Л.В., Галияхметова Э.Х., Мелитицкая А.В., Фархутдинов Р.Г. - Уфа: Травы Башкирии, 2010. - 93 с.

Издание подготовлено для практических врачей, студентов, интернов и содержит информацию о возможности использования лекарственных растений для профилактики и в комплексной терапии артериальной гипертензии. Описаны химический состав, фармакологические свойства, применение лекарственных растений и диеты, рекомендуемые при артериальной гипертензии.

Печатается по решению Ассоциации фитотерапевтов РБ.

© Коллектив авторов, 2010
© ООО «Травы Башкирии», 2010



УДК 618.1

ББК 57.1

Ф64

Рецензенты:

*доктор фармацевтических наук, профессор К.А. Пупыкина
кандидат медицинских наук, доцент А.Г. Яцук*

Фитотерапия в гинекологии /Кудашкина Н.В., Пупкарев В.А., Газизова А.С., Хасанова С.Р., Валиуллина Н.З., Файзуллина Р.Р., Раянова Г.М., Курамшина О.А., Фархутдинова С.М., Фархутдинов Р.Г. - Уфа: Гилем, 2009. - 120 с.

ISBN 978-5-7501-1084-1

Издание подготовлено для практических врачей, студентов, интернов и содержит информацию о возможности применения лекарственных растений в акушерско-гинекологической практике. Описан химический состав, фармакологические свойства и применение растений, используемых при гинекологических заболеваниях.

Печатается по решению Ассоциации фитотерапевтов РБ.

ISBN 978-5-7501-1084-1

© Коллектив авторов, 2009
© Издательство «Гилем», 2009
© ООО «Травы Башкирии», 2009



БИБЛИОТЕКА
ПРАКТИКУЮЩЕГО
ВРАЧА

ФИТОТЕРАПИЯ ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ



УФА 2010

УДК 616.9(07)

ББК 55.14я73

Ф 64

Рецензенты:

Валишин Д.А., заведующий кафедрой инфекционных болезней с курсом дерматовенерологии ИПО, д.м.н., профессор БГМУ

Волевач Л.А. заведующая кафедрой поликлинической медицины ИПО, д.м.н., профессор БГМУ

Фитотерапия при инфекционных заболеваниях //Хасанова С.Р., Куватова Н.Д., Аюпова Н.Г., Кудашкина Н.В., Гашимова Д.Т., Фархутдинов Р.Г. - Уфа: «Травы Башкирии», 2010. - 80 с.

В монографии излагаются основные вопросы по использованию лекарственных растений и фитопрепаратов для профилактики и лечения инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта, гепатобиллиарной системы и мочевыводящих путей. Предназначено для практических врачей, ординаторов, интернов, студентов.

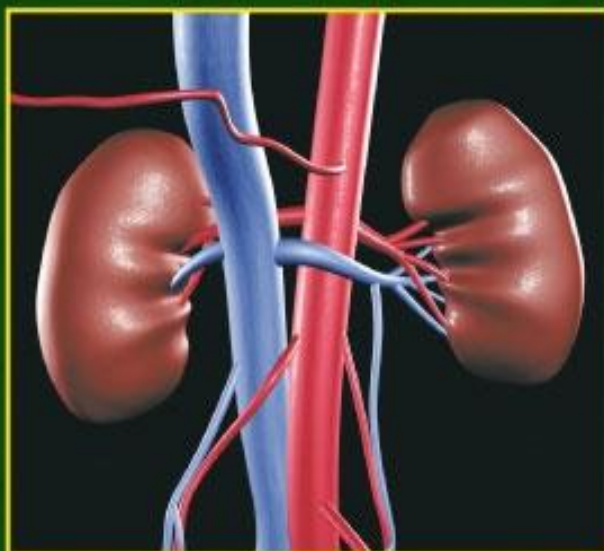
Печатается по решению Ассоциации фитотерапевтов РБ

© Коллектив авторов. 2010

© ООО «Травы Башкирии», 2010



БИБЛИОТЕКА
ПРАКТИКУЮЩЕГО
ВРАЧА



ФИТОТЕРАПИЯ В УРОЛОГИИ

УФА 2011

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2338550

**СБОР ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ
ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ
МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ**

Патентообладатель(ли): *Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования "БАШКИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И
СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ" (ГОУ ВПО БГМУ РОСЗДРАВА) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2007137175

Приоритет изобретения 27 сентября 2007 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 20 ноября 2008 г.

Срок действия патента истекает 27 сентября 2027 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной
собственности, патентам и товарным знакам



Б.П. Симонов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 338 550** ⁽¹³⁾ **C1**

(51) МПК

A61K 36/738 (2006.01)*A61P 9/10* (2006.01)*A61K 36/24* (2006.01)*A61K 36/28* (2006.01)*A61K 36/282* (2006.01)*A61K 36/48* (2006.01)*A61K 36/484* (2006.01)*A61K 36/534* (2006.01)*A61K 36/68* (2006.01)*A61K 36/73* (2006.01)*A61K 36/734* (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2007137175/15, 27.09.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
27.09.2007

(45) Опубликовано: 20.11.2008 Бюл. № 32

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: Машковский М.Д. Лекарственные
средства. - М. ООО Новая волна, 2001, с.391.
РЛС, 2005, с.900 - препарат Танакан. RU
2120292 C1, 20.10.1998. RU 2223110 C1,
10.02.2004.Адрес для переписки:
450000, г.Уфа-Центр, Ленина, 3,
БАШГОСМЕДУНИВЕРСИТЕТ, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Хасанова Светлана Рашитовна (RU),
Галияхметова Эльвира Халитовна (RU),
Басченко Наталья Жановна (RU),
Макара Нина Стефановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
"БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО
ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ
РАЗВИТИЮ" (ГОУ ВПО БГМУ РОСЗДРАВА) (RU)(54) СБОР ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ
МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к химико-
фармацевтической промышленности и
фитотерапии. Сбор содержит листья барвинка
малого, листья мяты перечной, листья
подорожника большого, плоды боярышника, плоды
шиповника, плоды рябины, траву полыни
обыкновенной, траву донника, траву сушеницытопяной, цветки ромашки, корни солодки при
соотношении компонентов в частях соответственно
1:1:1:1:1:1:1:2:1:1:1. Сбор расширяет арсенал
лекарственных средств растительного
происхождения с выраженным терапевтическим
эффектом для лечения нарушений мозгового
кровообращения. 3 ил.

RU 2 338 550 C1

RU 2 338 550 C1

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2416424

**СБОР ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ
ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ
БОЛЕЗНИ СЕРДЦА**

Патентообладатель(ли): **ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
"БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И
СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ" (RU)**

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2009142107

Приоритет изобретения **16 ноября 2009 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации **20 апреля 2011 г.**

Срок действия патента истекает **16 ноября 2029 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной
собственности, патентам и товарным знакам

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 416 424** ⁽¹³⁾ **C1**

(51) МПК

A61K 36/899 (2006.01)*A61P 9/10* (2006.01)*A61K 36/534* (2006.01)*A61K 36/533* (2006.01)*A61K 36/734* (2006.01)*A61K 36/28* (2006.01)*A61K 36/73* (2006.01)*A61K 36/23* (2006.01)*A61K 36/282* (2006.01)*A61K 36/51* (2006.01)*A61K 36/185* (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2009142107/15, 16.11.2009

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
16.11.2009

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 16.11.2009

(45) Опубликовано: 20.04.2011 Бюл. № 11

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2204403 C1, 20.05.2003. RU 2137496
C1, 20.09.1999. RU 2022561 C1, 15.11.1994. RU
2209075 C1, 27.03.2003. RU 2045276 C1,
10.10.1995.

Адрес для переписки:

450077, г.Уфа-центр, Ленина, 3,
БАШГОСМЕДУНИВЕРСИТЕТ, Патентный
отдел

(72) Автор(ы):

Хасанова Светлана Рашитовна (RU),
Потанина Анна Павловна (RU),
Кудашкина Наталья Владимировна (RU),
Басченко Наталья Жановна (RU),
Макара Нина Стефановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ГОСУДАРСТВЕННОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ "БАШКИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ФЕДЕРАЛЬНОГО
АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ
И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ" (RU)(54) СБОР ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ
ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а
именно к фитотерапии. Сбор содержит плоды
боярышника, траву пустырника, шишки хмеля,
листья мяты перечной, траву донника,
корневища с корнями девясила, плоды аронии
черноплодной, траву золототысячника, листья
земляники лесной, траву мелиссы
лекарственной, траву полыни обыкновенной,
столбики с рыльцами кукурузы, плоды рябины

обыкновенной, плоды тмина обыкновенного
при соотношении компонентов в частях
соответственно 1:1:1:0,5:2:1:1:1:2:1:1:1:1.

Использование изобретения обеспечивает
расширение арсенала лекарственных средств
растительного происхождения с выраженным
терапевтическим эффектом для профилактики
и лечения ишемической болезни сердца. 3 ил., 2
табл.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2521373

**СПОСОБ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ
ОСНОВНЫХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У
ЛИЦ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА С
ПРИМЕНЕНИЕМ ЖЕВАТЕЛЬНОГО ФИТОСУБСТРАТА**

Патентообладатель(ли): **ШТАНЬКО МАРИЯ ИВАНОВНА (RU),
ХАСАНОВА СВЕТЛАНА РАШИТОВНА (RU), КУДАШКИНА
НАТАЛЬЯ ВЛАДИМИРОВНА (RU), ЧУЙКИН СЕРГЕЙ
ВАСИЛЬЕВИЧ (RU), ЕГОРОВА ЕЛЕНА ГЕРТРУДОВНА (RU)**

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2013113837

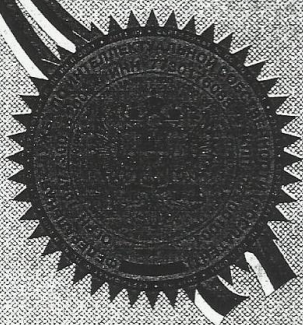
Приоритет изобретения 27 марта 2013 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 30 апреля 2014 г.

Срок действия патента истекает 27 марта 2033 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 521 373** (13) **C1**

(51) МПК

A61K 9/68 (2006.01)

A61K 36/734 (2006.01)

A61P 1/02 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

На основании пункта 1 статьи 1366 части четвертой Гражданского кодекса Российской Федерации патентообладатель обязуется заключить договор об отчуждении патента на условиях, соответствующих установившейся практике, с любым гражданином Российской Федерации или российским юридическим лицом, кто первым изъявил такое желание и уведомил об этом патентообладателя и федеральный орган исполнительной власти по интеллектуальной собственности.

(21)(22) Заявка: 2013113837/15, 27.03.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
27.03.2013

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.03.2013

(45) Опубликовано: 27.06.2014 Бюл. № 18

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2011123733 A, 20.12.2012. CN 102552749 A, 11.07.2012. CN 101933988 A, 05.01.2011. CN 17624428 A, 26.04.2006. EP 2441333 A1, 18.04.2012. JP 2003-335648 A, 25.11.2003. RU 2155062 C1, 27.08.2000

Адрес для переписки:

450077, г.Уфа-ЦЕНТР, Ленина, 3,
БАШГОСМЕДУНИВЕРСИТЕТ, Патентный
отдел

(72) Автор(ы):

ШТАНЬКО МАРИЯ ИВАНОВНА (RU),
ХАСАНОВА СВЕТЛАНА РАШИТОВНА
(RU),
КУДАШКИНА НАТАЛЬЯ
ВЛАДИМИРОВНА (RU),
ЧУЙКИН СЕРГЕЙ ВАСИЛЬЕВИЧ (RU),
ЕГОРОВА ЕЛЕНА ГЕРТРУДОВНА (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ШТАНЬКО МАРИЯ ИВАНОВНА (RU),
ХАСАНОВА СВЕТЛАНА РАШИТОВНА
(RU),
КУДАШКИНА НАТАЛЬЯ
ВЛАДИМИРОВНА (RU),
ЧУЙКИН СЕРГЕЙ ВАСИЛЬЕВИЧ (RU),
ЕГОРОВА ЕЛЕНА ГЕРТРУДОВНА (RU)

(54) СПОСОБ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ОСНОВНЫХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА С ПРИМЕНЕНИЕМ ЖЕВАТЕЛЬНОГО ФИТОСУБСТРАТА

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, в частности к стоматологии. Сущность способа местного лечения и профилактики основных стоматологических заболеваний у людей пожилого и старческого возраста заключается в применении жевательного субстрата, содержащего жевательную основу и в качестве активного вещества экстракт лекарственного растения, где в качестве экстракта субстрат содержит 10,0 г сгущенного и высушенного до остаточной влажности 25% полиэкстракта из листьев боярышника кроваво-красного, а в качестве основы 40,0 г сорбита, 15,0 г

абрикосовой камеди, 10,0 г желатина, 1,0 г лимонной кислоты и 100,0 г воды очищенной. Жевательный субстрат применяют 3 раза в день по 15 минут в течение 2 недель, по 1 субстрату, который жуют до полного растворения, при средней массе одного субстрата около 4,0 г. Использование способа позволяет уменьшить сухость слизистой оболочки полости рта, красной каймы губ, обложенность языка, частоту стоматитов, чувство жжения и неприятного привкуса во рту, а также нормализовать физико-химические показатели ротовой жидкости. 4 табл., 1 пр.