

На правах рукописи



ПОСОХИНА АЛИНА АЛЕКСЕЕВНА

**РАЗРАБОТКА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ СБОРА
АНГИОПРОТЕКТОРНОГО
И ЭКСТРАКТА СУХОГО НА ЕГО ОСНОВЕ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Улан-Удэ – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Мирович Вера Михайловна – доктор фармацевтических наук, профессор.

Официальные оппоненты:

Лубсандоржиева Пунцык-Нима Базыровна – доктор фармацевтических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей и экспериментальной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук / лаборатория медико-биологических исследований, старший научный сотрудник.

Рандалова Туяна Эрдэмовна – кандидат фармацевтических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» Министерства науки и высшего образования РФ / кафедра фармации медицинского института, доцент.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ.

Защита состоится «25» июня 2021 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 999.140.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН по адресу: 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке Бурятского научного центра СО РАН и на сайте ИОЭБ СО РАН: <http://igeb.ru>.

Автореферат разослан «22» апреля 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
д.б.н., доцент



Хобракова Валентина Бимбаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Неблагоприятные экологические условия, малоподвижный образ жизни, стресс – это не полный перечень факторов, способствующих распространению венозных заболеваний. Масштабные исследования, проведенные по программе Vein Consult, показали наличие венозных заболеваний у 83,6 % пациентов, включенных в исследование (Rabe E. et al., 2012). В России варикозная болезнь в настоящее время занимает одно из ведущих мест среди сосудистых заболеваний и диагностируется более чем у 20 % мужчин и 40 % женщин (Покровский А. В., 2003).

Средствами базисной фармакотерапии служат флеботропные лекарственные препараты (Стойко Ю. М. и др., 2018). Для лечения данной группы заболеваний используется достаточно широкий спектр медикаментозных препаратов на основе природных соединений, а также полученных синтетическим, полусинтетическим путем. В профилактике и лечении венозных заболеваний используются также ангиопротекторные средства, они укрепляют сосудистые стенки, повышают их эластичность, восстанавливают проницаемость капилляров. Ангиопротекторным действием обладают биологически активные вещества растений (БАВ) – флавоноиды, антоцианы, фенолкарбоновые кислоты, сапонины.

Применение растительных средств в медицинской практике обусловлено тем, что они практически не токсичны, содержат комплекс биологически активных веществ, проявляют полифункциональные свойства и оказывают влияние на многие стадии патологического процесса (Николаев С. М., 2012). На фармацевтическом рынке России многокомпонентные растительные препараты представлены в ограниченном количестве и составляют 4,8 % от имеющегося ассортимента средств вено-tonизирующего действия. Зарегистрирован многокомпонентный препарат «Ангионорм», представляющий собой экстракт сухой из сырья растений *Aesculi hippocastani semina*, *Glycyrrhizae glabrae radices*, *Crataegi fructus*, *Rosae fructus* (Колхир В. К. и др., 2004).

Сборы для лечения и профилактики венозных заболеваний на российском фармацевтическом рынке в настоящее время не включены в Государственный реестр лекарственных средств, поэтому разработка сбора ангиопротекторного действия и лекарственного средства на его основе является задачей актуальной.

Известны фармакопейные растения, обладающие капилляроукрепляющим, антиоксидантным действием и содержащие флавоноиды, антоцианы и фенолкарбоновые кислоты: *Bupleurum multinerve* DC, *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Aronia melanocarpa* (Michx.). Вено-tonизирующее и капилляроукрепляющее действие проявляют сапонины *Aesculus hippocastanum* L., противовоспалительным и мочегонным действием обладают *Calendula officinalis* L. и *Fragaria vesca* L.

Сырье данных растений может стать основой для разработки нового растительного средства.

Качество растительного сырья определяется нормативной документацией в соответствии с ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения». Качество сырья *Bupleuri multinervis herba* регламентируется ВФС-42-580-76, которая не соответствует современным требованиям, что является основанием для разработки новой фармакопейной статьи.

Степень разработанности темы исследования.

Быковым В. А. с соавторами был предложен сбор «Касмин» для профилактики и лечения тромбозов различной этиологии, сбор влияет на систему гемостаза, сердечно-сосудистую систему, липидный и углеводный обмен. В состав сбора входят *Aesculi hippocastani semina*, *Glycyrrhizae glabrae radices*, *Menthae piperitae folia* или *Melissae officinalis herbae*, *Crataegi fructus*, *Rosae fructus* (Быков В. А. и др., 1997). В настоящее время сбор «Касмин» не входит в Государственный реестр лекарственных средств. Колхир В. К. и Воскобойникова И. В. предложили растительную композицию «Ангионорм» (№ государственной регистрации ЛС – 001137-050319), обладающую антиагрегационным, капилляропротекторным, венотонизирующим действием (Колхир В. К. и др., 2004).

Исследованию химического состава флавоноидов в наземных органах *Bupleurum multinerve* посвящены работы Минаевой В. Г. с соавторами в 1978–1991 гг. (Минаева В. Г. и др., 1978, 1985, 1991), Михайловой С. И. (Михайлова С. И., 1998). Изучение фенолпропаноидов и флавоноидов в *Bupleurum multinerve* флоры Бурятии проводил Оленников Д. Н. с соавт. в 2013 году (Olennikov D. N. et al., 2013). На сырье *Bupleuri multinervis herba* имеется ВФС-42-580-76, по которой подлинность сырья устанавливается методом бумажной хроматографии (время анализа 24 часа), количественное определение флавоноидов проводится хроматоспектрофотометрическим методом (время анализа более 24 часов).

Целью диссертационного исследования является разработка состава, стандартизация сбора ангиопротекторного действия и экстракта сухого на его основе.

В задачи диссертационной работы входило:

1) провести анализ ассортимента препаратов венотонизирующего действия на фармацевтическом российском рынке; дать фитохимическую и фармакологическую характеристику растениям, рекомендованным для включения в сбор ангиопротекторный;

2) теоретически и экспериментально обосновать компонентный состав сбора ангиопротекторного действия;

3) исследовать биологически активные вещества и элементный состав сбора ангиопротекторного, дать оценку их количественному содержанию;

4) установить макро- и микроскопические признаки, числовые показатели сбора; разработать и валидировать методики количественного определения суммы флавоноидов и суммы фенолкарбоновых кислот;

5) исследовать состав фенольных соединений сырья *Bupleuri multinervis herba*, провести усовершенствование нормативной документации;

6) разработать технологию получения экстракта сухого «Ангиофитон» (на основе сбора ангиопротекторного), изучить его химический состав и провести стандартизацию;

7) разработать проекты ФС на сбор ангиопротекторный, ФС на сырье *Bupleuri multinervis herba*, ФСП на экстракт сухой «Ангиофитон».

Научная новизна. Теоретически обоснован и экспериментально подтвержден компонентный состав нового сбора ангиопротекторного (патент на изобретение № 2729784, зарегистрированный 12.08.2020). В составе сбора установлено содержание флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, тритерпеновых сапонинов, кумаринов, антоцианов, эфирного масла, полисахаридов, аминокислот, дубильных веществ. В сумме флавоноидов идентифицировано 10 соединений (рутин, изокверцитрин, нарциссин, изорамнетин-3-*O*-глюкозид, кверцетин, изорамнетин, кемпферол, гиперозид, гисперидин, спиреозид), 4 фенолкарбоновые кислоты (3-*O*-кофеилхинная, 5-*O*-кофеилхинная, протокатеховая, кофейная), 2 антоциана (цианидин-3-*O*-глюкозид, цианидин-3-*O*-арабинозид). При этом преобладают рутин 3,35±0,06 мг/г, нарциссин 4,15±0,09 мг/г. В составе эфирного масла содержится 21 компонент. Доминирующие компоненты – салициловый альдегид (58,30%), метилсалицилат (16,17%). В составе тритерпеновых сапонинов идентифицированы календулозиды А и В, эсцин; в составе кумаринов – эскулетин, убеллиферон. Сбор содержит 8 макро-, 64 микро- и ультрамикрорезультатов. Разработаны методики количественного определения суммы флавоноидов в сборе ангиопротекторном в пересчете на рутин, суммы фенолкарбоновых кислот – в пересчете на 3-*O*-кофеилхинную кислоту.

Методом УВЖХ-ДМД-ИЭР-МС в *Bupleuri multinervis herba* идентифицировано 8 флавоноидов (производных кверцетина, кемпферола, изорамнетина) и 7 фенолкарбоновых кислот (производных хинной кислоты). Впервые установлено содержание флавоноидов кверцетин-3-*O*-глюкуроида, астрагалина и пяти фенолкарбоновых кислот 5-*O*-*n*-кумароилхинной, 5-*O*-ферулоилхинной, 3-*O*-ферулоилхинной, 3,5-ди-*O*-кофеилхинной, 4,5-ди-*O*-кофеилхинной. В надземных органах *B. multinerve* исследован элементный состав, идентифицировано 72 элемента.

Дополнены анатомо-диагностические признаки сырья *Bupleuri multinervis herba* – наличие млечников во всех надземных органах.

Разработана методика спектрофотометрического количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин.

Разработан способ получения экстракта сухого «Ангиофитон» (на основе сбора ангиопротекторного) и установлены его показатели качества.

Практическая значимость. Разработаны новые растительные средства сбор ангиопротекторный и экстракт сухой на его основе.

В результате проведенных испытаний предложены и внедрены проекты фармакопейных статей на сбор ангиопротекторный – ФС «Сбор ангиопротекторный», траву володушки многожилковой – ФС «Володушки многожилковой трава – *Bupleuri multinervis herba*», ФСП на экстракт сухой «Ангиофитон».

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс в Иркутском государственном медицинском университете на дисциплинах фармакогнозия, фармацевтическая химия, основы фитотерапии, а также на курсах повышения квалификации провизоров в цикле «Контроль качества лекарственных средств».

Результаты исследования используются в работе контрольно-аналитической группы ООО «Иван-чай» (г. Ангарск): состав сбора ангиопротекторного, анатомо-диагностические признаки компонентов сбора ангиопротекторного, технология получения экстракта сухого «Ангиофитон», методики количественного определения суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в экстракте «Ангиофитон» спектрофотометрическим методом.

Методология и методы исследования. При изучении перспективы внедрения сбора ангиопротекторного в практику проведен анализ ассортимента лекарственных средств, применяемых при венозных заболеваниях; использованы методические подходы по разработке новых сборов с определенной фармакологической направленностью; проанализированы нормативная документация, сведения литературы, патенты на компоненты разрабатываемого сбора; дана оценка актуальности темы исследования, установлены цель и задачи диссертационной работы. В экспериментальной части работы применялись современные физико-химические методы: ультравысокоэффективная жидкостная хроматография, МК-ВЭЖХ-УФ, ТСХ, методы титриметрии, спектрофотометрические методы.

На защиту выносятся:

– разработка компонентного состава сбора ангиопротекторного, исследования его химического состава, разработка товароведческих показателей, методик определения подлинности сбора, разработка и валидация методик количественного определения суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот;

- материалы по исследованию фенольных соединений и совершенствованию нормативной документации на *Bupleuri multinervis herba*, установление анатомо-диагностических признаков, определение

числовых показателей, разработка и валидация методики спектрофотометрического анализа суммы флавоноидов;
- способ получения, исследование химического состава, стандартизация экстракта сухого «Ангиофитон» (на основе сбора ангиопротекторного).

Личное участие автора. Автором проведен анализ лекарственных средств, применяемых для лечения и профилактики венозных заболеваний, определена перспективность разработки и внедрения в медицинскую практику новых растительных средств, в частности сбора ангиопротекторного действия. Запланированы и выполнены экспериментальные исследования по разработке состава сбора, изучению его химического состава, выполнены исследования по стандартизации сбора и *Vupleuri multinervis herba*. Исследование фенольных соединений методом УВЭЖХ-ДМД-ИЭР-МС и МК-ВЭЖХ-УФ проведены совместно с д.фарм.н. Оленниковым Д. Н. – ведущим научным сотрудником ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН. Автором подготовлены к публикации материалы диссертационного исследования, представлены доклады на конференциях, оформлены диссертационная работа и автореферат.

Апробация полученных результатов. Основные положения и результаты работы доложены и обсуждены на конференциях различного уровня. Международные конференции: «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Республика Казахстан, Шимкент, 2017). Всероссийские конференции: «Актуальные вопросы современной медицины» (Иркутск, 2017–2020), «Инновационные технологии в фармации» (Иркутск, 2018–2020), «Природные соединения и здоровье человека» (Иркутск, 2019, 2020).

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом основных научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава РФ по комплексной теме «Изучение перспективных лекарственных растений Восточной Сибири» (номер государственной регистрации 01.2.00304320).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Научные положения, изложенные в диссертационной работе, соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) по пунктам: 2 – «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств»; 3 – «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления»; 6 – «Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения,

идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе».

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 2 статьи – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, получен 1 патент РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 212 страницах машинописного текста. Диссертационная работа имеет введение, обзор литературы, главу объекты и методы исследований, четыре главы отражают результаты экспериментальных исследований, а также имеются выводы и приложения. Работа иллюстрирована 59 таблицами и 38 рисунками. Библиографический указатель включает 171 источник, из них 51 – на иностранных языках.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, дана характеристика степени разработанности темы, отражена научная новизна и практическая значимость исследования, изложены положения работы, выносимые на защиту.

Глава 1 посвящена анализу ассортимента растительных средств, применяемых для профилактики и терапии венозных заболеваний, принципам разработки многокомпонентных растительных средств (сборов), ботанико-химической характеристике компонентов сбора ангиопротекторного. Во второй главе охарактеризованы объекты исследования и методы фармакогностического, фитохимического анализа. В третьей главе дается теоретическое и экспериментальное обоснование состава сбора ангиопротекторного, состоящего из сырья 6 лекарственных растений, разрешенных для применения в медицинской практике. Четвертая глава посвящена исследованию химического состава и стандартизации сбора ангиопротекторного. В пятой главе приведены результаты по совершенствованию методов определения подлинности и количественного содержания суммы флавоноидов *Bupleuri multinervis herba*. Шестая глава посвящена разработке технологии получения экстракта сухого на основе сбора ангиопротекторного, изучению его химического состава и разработке методик оценки подлинности и количественного определения флавоноидов и фенолкарбоновых кислот. В выводах представлены основные результаты исследования. В приложении имеются проекты ФС на сбор ангиопротекторный, ФС на *Bupleuri multinervis herba*, проект ФСП на экстракт сухой «Ангиофитон», акты внедрений, копия патента РФ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследований

Объектом исследования являлся сбор, состоящий из сырья: *Vupleuri multinervis herba* – володушки многожилковой травы (ВФС-42-580-76), *Aesculi hippocastani semina* – конского каштана семян (ТУ 9377-075-04868244-2008), *Filipendulae ulmariae flores* – лабазника вязолистного цветков (ВФС – 42-1717-87), *Aroniae melanocarpaе sicco fructus* – аронии черноплодной сухих плодов (ФС.2.5.0003.15), *Fragariae vescae folia* – земляники лесной листьев (ФС.2.5.0016.15), *Calendulae officinalis flores* – календулы лекарственной цветков (ФС.2.5.0030.15). Все компоненты сбора соответствовали требованиям нормативной документации.

Образцы сырья *Vupleuri multinervis herba* собирали в Иркутской области в период массового цветения (2017–2020 гг.), сушили в тени под навесом.

Макро- и микроскопический анализ проводили в соответствии с ГФ XIV издания, использовали микроскопы МБС-12, Микмед-2. Микрофотографии препаратов выполняли на микроскопе Levenhuk (США) с цифровой фотокамерой с последующей обработкой фотографий в программе Windows Adobe Photoshop 10,0.

Состав биологически активных веществ исследовали хроматографическими методами: БХ (на бумаге марки Санкт-Петербургской фабрики № 2 «М»), ТСХ (на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ). Идентификацию флавоноидов и фенолкарбоновых кислот проводили методом *УВЭЖХ-ДМД-ИЭР-МС* на жидкостном хроматографе LCMS-8050 (Shimadzu, Columbia, MD, USA), соединенном с диодно-матричным детектором (ДМД) и 3Q детектором с ионизацией электрораспылением, используя колонку GLC Mastro C18 (150×2,1 мм, Ø 3 мкм; Shimadzu, Kyoto, Japan).

Количественное содержание фенольных соединений определяли методом *МК-ВЭЖХ-УФ* на приборе Миллихром А-02 («Эконова», г. Новосибирск). Условия анализа: колонка ProntoSIL-120-5-C18 AQ (1×60мм×5 мкм; Metrohm AG, Herisau, Switzerland); элюент А – 0,2 М LiClO₄ в 2,5 мкМ HClO₄; элюент В – MeCN; УФ-детектор 330 нм, 360 нм.

Компонентный состав эфирного масла исследовали методом хромато-масс-спектрометрии на приборе Agilent Technologies (6890N) с квадрупольным масс-спектрометром. Идентификация выделенных компонентов проводилась путем сравнения линейных индексов удерживания и полных масс-спектров соединений с данными библиотеки Nist 11.

Минеральный состав образцов анализировали на приборе Agilent 7500 се с использованием инертной системы ввода образца.

Спектральные исследования выполняли на спектрофотометрах LEKI SS 1207UV (Финляндия), СФ-2000 (Россия), СФ-46 (Россия) в кварцевых кюветках с толщиной слоя 10 мм.

Для статистического анализа результатов исследований использовали программу Statistica MS Excel. О статистической достоверности судили по параметрическому критерию Стьюдента (t).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обоснование компонентного состава растительного сбора, обладающего ангиопротекторным действием

На основании анализа основных и сопутствующих симптомов венозных заболеваний для состава сбора ангиопротекторного были выбраны лекарственные растения, применяемые в официальной медицине и обладающие капилляроукрепляющим, вентонизирующим, противовоспалительным, мочегонным и антиоксидантным действием. Критерием выбора растений в сбор являлось присутствие в составе БАВ флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, тритерпеновых сапонинов, антоцианов, а также наличие нормативной документации и достаточной сырьевой базы.

Флавоноиды и фенолкарбоновые кислоты травы *B. multinerve*, цветков *F. ulmaria* уменьшают ломкость капилляров, восстанавливают их проницаемость, повышают тонус вен, снижают застой крови, проявляют противовоспалительное действие. Тритерпеновые сапонины и кумарины семян *Ae. hippocastanum* обеспечивают повышение тонуса венозных сосудов, препятствуют образованию тромбов, оказывают капилляропротекторное действие. Антоцианы, аскорбиновая кислота плодов *A. melanocarpa* проявляют высокую антиоксидантную и Р-витаминную активность. Биологически активные вещества листьев *F. vesca* и цветков *C. officinalis* определяют их противовоспалительное, антиоксидантное и мочегонное действие. Сырье приведенных растений предложено для включения в состав сбора ангиопротекторного.

Для установления оптимального соотношения компонентов в сборе было составлено 5 вариантов растительных композиций (А, В, С, D, F) (табл. 1).

Таблица 1 – Растительные композиции с различным соотношением компонентов

| Компоненты | Содержание компонентов, % | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------|-----|------------|-----|-----|
| | А | В | С | D | F |
| <i>B. multinervis herba</i> | 20 | 30 | 20 | 20 | 30 |
| <i>Ae. hippocastani semina</i> | 10 | 20 | 20 | 30 | 20 |
| <i>F. ulmariae flores</i> | 10 | 20 | 30 | 20 | 20 |
| <i>A. melanocarpae sicco fructus</i> | 20 | 10 | 10 | 10 | 20 |
| <i>F. vescae folia</i> | 20 | 10 | 10 | 10 | 5 |
| <i>C. officinalis flores</i> | 20 | 10 | 10 | 10 | 5 |
| Итого | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

Композиции исследовали на содержание флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, полифенольных соединений, аскорбиновой кислоты и экстрактивных веществ, как соединений, вносящих наибольший вклад в фармакологическую активность сбора (табл. 2).

Таблица 2 – Количественное содержание биологически активных веществ в извлечениях из растительных композиций, полученных 50 % спиртом этиловым

| Растительная композиция | Содержание | | | | |
|-------------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | СФЛ, мг % | СФКК, мг % | АК, мг % | ПФС, % | ЭВ, % |
| А | 37,04±2,10 | 32,4±1,20 | 8,93±0,24 | 0,44±0,02 | 1,25±0,04 |
| В | 47,01±1,50 | 30,8±1,30 | 8,91±0,26 | 0,49±0,01 | 1,27±0,05 |
| С | 55,90±2,40 | 38,4±1,20 | 8,94±0,25 | 0,52±0,02 | 1,34±0,07 |
| Д | 40,66±1,30 | 18,8±0,60 | 5,85±0,15 | 0,40±0,01 | 1,33±0,03 |
| Е | 46,12±2,80 | 12,0±0,70 | 5,94±0,14 | 0,35±0,01 | 1,28±0,06 |

Примечание. СФЛ – сумма флавоноидов, СФКК – сумма фенолкарбоновых кислот, АК – аскорбиновая кислота, ПФС – полифенольные соединения, ЭВ – экстрактивные вещества.

Вариант композиции С содержит наибольшее количество биологически активных и экстрактивных веществ. Фармакологические исследования, проведенные на кафедре фармакологии ИГМУ, показали, что растительная композиция С обладает наибольшей антиоксидантной активностью и проявляет капилляроукрепляющее и противовоспалительное действие. Состав композиции С принят как базовый для сбора ангиопротекторного.

Исследование химического состава и стандартизация сбора ангиопротекторного

В составе БАВ сбора ангиопротекторного установили содержание флавоноидов, дубильных веществ, сапонинов, аминокислот, антоцианов, кумаринов, органических кислот, β-каротина, аскорбиновой кислоты, фенолкарбоновых кислот. Методом БХ и ТСХ в сравнении со стандартными образцами идентифицированы флавоноиды – кверцетин, кемпферол, гиперозид, рутин, нарциссин, изокверцитрин, гисперидин, спиреозид; антоцианы – цианидин-3-О-глюкозид, цианидин-3-О-арабинозид; фенолкарбоновые кислоты – 3-О-кофеилхинная, кофейная и протокатеховая; тритерпеновые сапонины – календулозиды А и В, эсцин.

Методом МК-ВЭЖХ-УФ в 70 % спиртовом извлечении сбора определены 5-О-кофеилхинная кислота, кверцетин-3-О-рутинозид (рутин), кверцетин-3-О-глюкозид (изокверцитрин), изорамнетин-3-О-рутинозид (нарциссин), изорамнетин-3-О-глюкозид, кверцетин, изорамнетин (рис. 1).

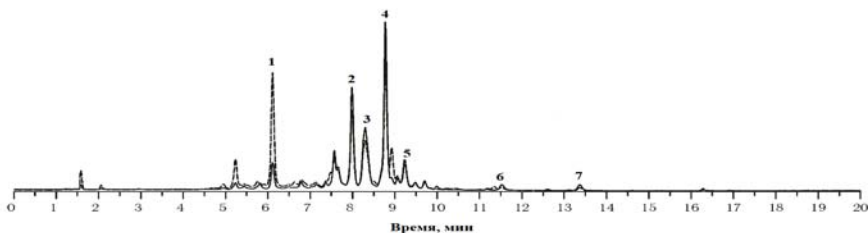


Рисунок 1 – Хроматограмма (МК-ВЭЖХ-УФ) спиртового извлечения сбора ангиопротекторного при 330 нм (пунктир) и 360 нм (сплошная). Числами указано положение соединений: 1 – 5-*O*-кофеилхинная кислота, 2 – кверцетин-3-*O*-рутинозид, 3 – кверцетин-3-*O*-глюкозид, 4 – изорамнетин-3-*O*-рутинозид, 5 – изорамнетин-3-*O*-глюкозид, 6 – кверцетин, 7 – изорамнетин.

Среди выделенных флавоноидов преобладают кверцетин-3-*O*-рутинозид, кверцетин-3-*O*-глюкозид, изорамнетин-3-*O*-рутинозид (табл. 4).

Таблица 4 – Количественное содержание флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в сборе ангиопротекторном (метод МК-ВЭЖХ – УФ)

| № п/п | Соединение | Время удерживания, мин | Содержание в мг/г |
|-------|---|------------------------|-------------------|
| 1 | 5- <i>O</i> -кофеилхинная кислота | 6,08 | 2,30±0,05 |
| 2 | Кверцетин-3- <i>O</i> -рутинозид (рутин) | 7,87 | 3,35±0,06 |
| 3 | Кверцетин-3- <i>O</i> -глюкозид (изокверцитрин) | 8,28 | 3,14±0,06 |
| 4 | Изорамнетин-3- <i>O</i> -рутинозид (нарциссин) | 8,77 | 4,15±0,09 |
| 5 | Изорамнетин-3- <i>O</i> -глюкозид | 9,15 | 0,78±0,02 |
| 6 | Кверцетин | 11,46 | 0,14±0,00 |
| 7 | Изорамнетин | 13,31 | 0,08±0,00 |
| | Содержание фенолкарбоновых кислот | | 2,30 |
| | Содержание суммы флавоноидов | | 11,64 |

В компонентном составе эфирного масла сбора идентифицировано 21 соединение: 7 углеводов, 11 монотерпенов, 2 фенольных соединения и 1 бензальдегид. Монотерпены – β- мирцен, dL-лимонен, линалоол, нераль, α-терпинеол, α-терпинил ацетат, гераниаль, β-цитронеллол, цис-гераниол, β-дамасценон, гераниол; фенольные соединения – метилсалицилат (16,17 %), салициловый альдегид (58,30 %); анисовый альдегид. Из жирных кислот идентифицированы пеларгоновая, лауриновая, миристиновая, пальмитиновая кислоты. Сбор содержит комплекс БАВ, обладающих ангиопротекторным действием (табл. 5).

Таблица 5 – Результаты определения количественного содержания биологически активных веществ в сборе ангиопротекторном

| Наименование БАВ | Метод анализа | Содержание, % |
|--|-------------------|-----------------|
| Сумма полифенольных соединений (окисляемые вещества) | титриметрический | 11,80±0,45 |
| Дубильные вещества в пересчете на танин | СФМ | 8,07±0,17 |
| Дубильные вещества в пересчете на танин (после осаждения р-ром желатины) | СФМ | 4,75±0,07 |
| Сумма флавоноидов в пересчете на рутин | СФМ | 3,28±0,05 |
| Сумма фенолкарбоновых кислот в пересчете на 3-О-кофеилхинную кислоту | СФМ | 3,32±0,10 |
| Эфирное масло | Метод дистилляции | 0,010±0,001 |
| Сумма аминокислот в пересчете на глутаминовую кислоту | СФМ | 6,37±0,23 |
| Аскорбиновая кислота | титриметрический | 298±9,73 мг % |
| Каротиноиды | СФМ | 77,68±1,36 мг % |
| Органические кислоты | титриметрический | 1,89±0,05 |
| Тритерпеновые сапонины | СФМ | 1,08±0,05 |
| Антоцианы | СФМ | 0,75±0,03 % |

Элементный состав сбора состоит из 8 макро-, 64 микро- и ультрамикроэлементов. Среди них содержатся элементы, участвующие в проведении нервных импульсов, влияющие на тонус стенок сосудов (кальций, натрий, железо, магний, цинк, фосфор, марганец). Анализируемые образцы сбора ангиопротекторного соответствовали нормам по содержанию мышьяка и тяжелых металлов.

В ходе работы по стандартизации компонентов сбора разработаны показатели определения подлинности. Внешние признаки компонентов сбора. Анатомо-диагностические признаки – фрагменты листьев, стеблей, цветков с млечниками; фрагменты листьев и цветков с простыми и железистыми волосками, фрагменты плодов с каменистыми клетками и склереидами; фрагменты семян с изодиаметричными клетками, содержащие крахмальные зерна; тычиночные нити; пыльца шаровидная и четырехгранная шиповатая.

Для обнаружения флавоноидов рекомендована качественная реакция с алюминия хлоридом и ТСХ в системе н-бутанол-лед. уксусная кислота – вода (4:1:2) с использованием стандартов рутина и кверцетина. Для определения тритерпеновых сапонинов предложена реакция с ванилином и конц. H₂SO₄ (реакция Санье).

Стандартизацию сбора ангиопротекторного предлагается проводить по содержанию флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, как соединений, обуславливающих основной фармакологический эффект.

В электронном спектре спиртового извлечения сбора при добавлении алюминия хлорида происходит смещение максимума в длинноволновой части спектра до 415 нм, который близок к максимуму поглощения СО рутина с алюминием хлоридом 412 ± 3 нм (рис. 2), поэтому в качестве стандартного образца выбран рутин.

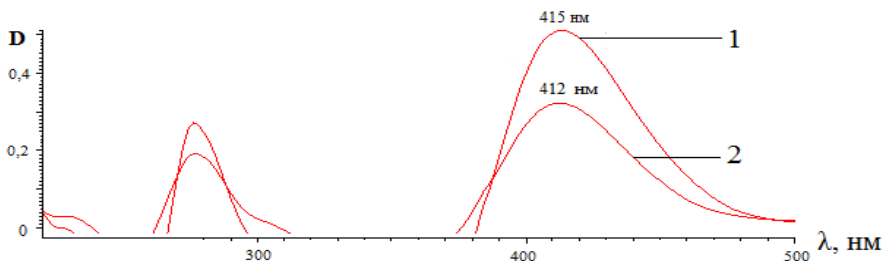


Рисунок 2 – Дифференциальные спектры спиртового извлечения сбора ангиопротекторного (1) и СО рутин (2) в присутствии алюминия хлорида.

Далее проведена адаптация методики спектрофотометрического определения суммы флавоноидов. Установлены оптимальные условия анализа: размер частиц сырья 1–2 мм, экстрагент 40 % спирт этиловый, время экстракции 60 минут, соотношение сырье-экстрагент 1:100, объем аликвоты 1 мл, количество 1 % $AlCl_3$ 1мл, время комплексообразования 45 минут. Относительная ошибка методики составляет $\pm 3,15$ % (табл. 6).

Таблица 6 – Метрологические характеристики методик количественного определения флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в сборе ангиопротекторном

| f | \bar{x} | S | $S\bar{x}$ | P, % | t(P,f) | $\Delta \bar{x}$ | \bar{E} , % |
|-------------------------|-----------|---------|------------|------|--------|------------------|---------------|
| Флавоноиды | | | | | | | |
| 8 | 4,09 | 0,16732 | 0,05577 | 95 | 2,31 | 0,13 | $\pm 3,15$ |
| Фенолкарбоновые кислоты | | | | | | | |
| 8 | 3,47 | 0,12153 | 0,04051 | 95 | 2,31 | 0,09 | $\pm 2,69$ |

Оптимальные условия экстракции фенолкарбоновых кислот из сбора ангиопротекторного совпадают с условиями анализа флавоноидов. Расчет процентного содержания суммы фенолкарбоновых кислот проводили в пересчете на 3-О-кофеилхинную кислоту (аналитическая длина волны 325 нм), используя удельный показатель поглощения 3-О-кофеилхинной кислоты ($E = 504$). Относительная ошибка методики $\pm 2,69$ % (табл. 6).

Предложенные методики соответствуют требованиям валидации – правильность, прецизионность, линейность. По результатам анализа 5

серий сбора установили норму содержания суммы флавоноидов не менее 3 %; суммы фенолкарбоновых кислот не менее 2,5 %; влажность не более 10 %; экстрактивных веществ, извлекаемых 40 % спиртом этиловым, не менее 35 %; экстрактивных веществ, извлекаемых водой, не менее 20 %; золы общей не более 11 %; золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, не более 3,5 %; частиц, не проходящих сквозь сито Ø7 мм, не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито Ø 0,18 мм, не более 5 %; частиц сбора, потерявших свою окраску, не более 3 %; органической и минеральной примеси не более 1 %. Стабильность числовых показателей изучали на 5 сериях сбора, показатели качества сохранились в течение двух лет наблюдения.

Исследования по стандартизации *Bupleuri multinervis herba*

Качество сырья *B. multinerve* регламентируется нормативным документом ВФС 42-580-76 *Herba Bupleuri multinervis*. Документ не соответствует современным требованиям к фармакопейным статьям. В разделе «Микроскопия» дается описание только для цельного сырья, а именно, листа, при этом не указывается важный диагностический признак – млечники с содержимым вдоль крупных жилок. В разделе не приводятся микрофотографии или рисунки микроскопического строения.

В разделе «Качественные реакции» приводится методика БХ с применением системы уксусная кислота-85 % муравьиная кислота-вода (10:2:3). Время разделения восходящим способом 24 часа, что достаточно длительно для определения подлинности сырья.

В раздел «Количественное определение» включен хроматоспектрофотометрический метод, предусматривающий экстракцию сырья 95 % спиртом этиловым при настаивании в течение 24 часов, а также разделение флавоноидов методом БХ также 24 часа. Методика длительна и трудоемка в исполнении.

Приведенные данные указывают на необходимость разработки новой фармакопейной статьи, соответствующей современным требованиям по разделам подлинность и испытания.

Анатомо-диагностическими признаками цельного и измельченного сырья *Bupleuri multinervis herba* являются (рис. 3): в поверхностных препаратах листьев клетки эпидермиса слабоизвилистые с устьицами анизокитного типа, жилки сопровождаются млечниками с желто-коричневым содержимым; чашечка цветка, основание венчика, тычиночные нити пронизаны млечниками; стебли в поперечном срезе округлые, в коре имеются крупные млечники, проводящие пучки многочисленные коллатеральные, расположены в виде кольца. В корневищах встречаются млечники, как в надземной части растения.

В микроскопии порошка диагностическое значение имеют фрагменты эпидермиса с устьицами анизокитного типа, фрагменты листа, стебля, цветка с млечниками.

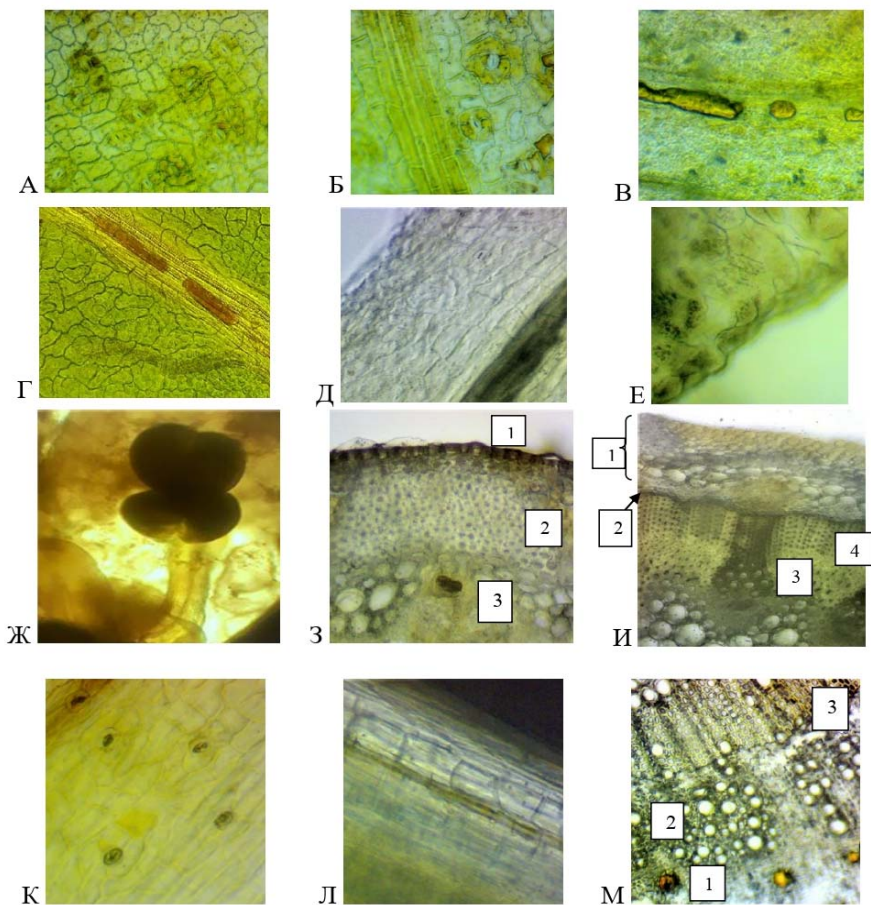


Рисунок 3 – Микроскопические признаки *Bupleuri multinervis herba*. А – устьица анизоцитного типа эпидермиса верхней стороны листа (x200); Б – прямостенный эпидермис нижней стороны листа над жилкой (x200); В – млечники стеблевого листа (x200), Г – млечники прикорневого листа (x150); Д – эпидермис с устьицами листочка обертки соцветия (x200); Е – сосочковидный эпидермис лепестка цветка (x180); Ж – пыльник тычинки (x120); З – кора стебля (x150): 1 – пробка, 2 – уголковая колленхима, 3 – млечник; И – поперечный срез стебля (x100): 1 – кора, 2 – камбий, 3 – проводящий пучок, 4 – склеренхима; К – эпидермис стебля (x200); Л – млечник в продольном срезе стебля (x150); М – поперечный срез корневища: 1 – млечники, 2 – сосуды, 3 – механические волокна (x200).

Далее нами проведено изучение состава флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в сырье *Vupleuri multinervis herba*. По результатам ВЭЖХ-ДМД при сканировании в режиме 326 нм идентифицированы соединения 5-*O*-ферулоилхинная кислота (4), кверцетин-3-*O*-рутинозид (рутин) (6), кверцетин-3-*O*-глюкозид (изокверцитрин) (7), изорамнетин-3-*O*-рутинозид (нарциссин) (9) (рис. 4).

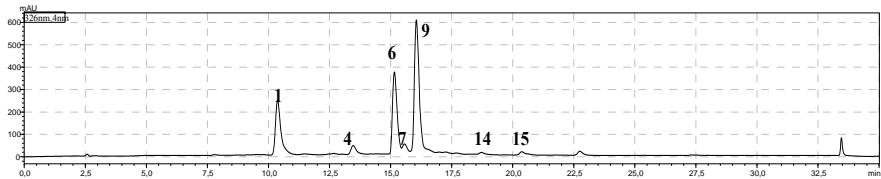


Рисунок 4 – Хроматограмма спиртового извлечения из надземных органов *B. multinerve* при λ 326 нм (метод ВЭЖХ-ДМД).

В режиме полного ионного тока (ТIC) идентифицированы соединения 4, 6, 9, кверцетин (14), изорамнетин (15), в режиме основного пика (ВРС) дополнительно идентифицировано соединение кверцетин-3-*O*-глюкозид (изокверцитрин) (7). В режиме выделенных ионов (SIM) определили содержание, кроме ранее установленных, еще 7 соединений: 5-*O*-кофеилхинная кислота (1), 3-*O*-кофеилхинная кислота (2), 5-*O*-*p*-кумароилхинная кислота (3), 3,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (10), изорамнетин-3-*O*-глюкозид (11), 4,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (12), кемпферол-3-*O*-глюкозид (астрагалин), кверцетин-3-*O*-глюкуронид (13) (табл. 7).

Таблица 7 – Хроматографические и спектральные свойства соединений, содержащихся в надземных органах *B. multinerve*

| № соединения | t, мин | [M-H] ⁻ | λ_{\max} , нм | Соединение |
|--------------|--------|--------------------|-----------------------|---|
| 1 | 10,70 | 353 | 326 | 5- <i>O</i> -Кофеилхинная кислота |
| 2 | 11,69 | 353 | 326 | 3- <i>O</i> -Кофеилхинная кислота |
| 3 | 12,97 | 337 | 310 | 5- <i>O</i> - <i>n</i> -Кумароилхинная кислота |
| 4 | 13,80 | 367 | 327 | 5- <i>O</i> -Ферулоилхинная кислота |
| 5 | 14,42 | 367 | 327 | 3- <i>O</i> -Ферулоилхинная кислота |
| 6 | 15,51 | 609 | 255, 265, 354 | Кверцетин-3- <i>O</i> -рутинозид (рутин) |
| 7 | 15,91 | 463 | 254, 266, 353 | Кверцетин-3- <i>O</i> -глюкозид (изокверцитрин) |
| 8 | 15,98 | 477 | 254, 266, 352 | Кверцетин-3- <i>O</i> -глюкуронид |
| 9 | 16,42 | 623 | 254, 268, 353 | Изорамнетин-3- <i>O</i> -рутинозид (нарциссин) |
| 10 | 16,46 | 515 | 326 | 3,5-Ди- <i>O</i> -кофеилхинная кислота |
| 11 | 16,81 | 477 | 253, 267, 353 | Изорамнетин-3- <i>O</i> -глюкозид |

| № соединения | t, мин | [M-H] ⁻ | λ _{max} , нм | Соединение |
|--------------|--------|--------------------|-----------------------|-------------------------------------|
| 12 | 16,93 | 515 | 326 | 4,5-Ди-О-кофеилхинная кислота |
| 13 | 17,55 | 431 | 253, 350 | Кемпферол-3-О-гликозид (астрагалин) |
| 14 | 19,06 | 301 | 255, 268, 355 | Кверцетин |
| 15 | 20,70 | 315 | 254, 267, 352 | Изорамнетин |

Методом МК-ВЭЖХ-УФ определили количественное содержание преобладающих флавоноидов и фенолкарбоновых кислот. Суммарное содержание фенолкарбоновых кислот составляет 8,18 мг/г, в сумме преобладает 5-О-кофеилхинная кислота, на неё приходится 6,60±0,12 мг/г. Суммарное содержание флавоноидов составляет 44,33 мг/г. В сумме флавоноидов преобладают рутин (19,53±0,39 мг/г) и нарциссин (20,74±0,41 мг/г) (табл. 8).

Таблица 8 – Количественное содержание фенолкарбоновых кислот и флавоноидов в надземных органах *B. multinerve*, мг/ г*± SD

| Соединение | t, мин | Содержание в мг/г |
|---|--------|-------------------|
| Фенолкарбоновые кислоты | | |
| 5-О-Кофеилхинная кислота | 6,08 | 6,60±0,12 |
| 3,5-Ди-О-кофеилхинная кислота | 7,43 | 1,58±0,03 |
| Суммарное содержание фенолкарбоновых кислот | | 8,18 |
| Флавоноиды | | |
| Кверцетин-3-О-рутинозид (рутин) | 7,87 | 19,53±0,39 |
| Кверцетин-3-О-гликозид (изокверцитрин) | 8,28 | 2,24±0,04 |
| Изорамнетин-3-О-рутинозид (нарциссин) | 8,77 | 20,74±0,41 |
| Изорамнетин-3-О-гликозид | 9,15 | 0,86±0,02 |
| Кверцетин | 11,46 | 0,43±0,01 |
| Изорамнетин | 13,31 | 0,53±0,01 |
| Суммарное содержание флавоноидов | | 44,33 |

* от массы воздушно-сухого сырья.

Для количественного определения суммы флавоноидов в сырье *B. multinerve* для включения в новую фармакопейную статью предлагается спектрофотометрический метод. В дифференциальном спектре *B. multinerve* в присутствии алюминия хлорида максимум поглощения в длинноволновой части спектра находится при 412 нм и совпадает с рутином, который выбран в качестве стандартного образца (рис. 5).

Экспериментальные данные показали, что оптимальным экстрагентом является 40–60 % спирт этиловый. Для полноты экстракции достаточно использование 40 % спирта этилового. Рекомендуемый размер частиц

сырья 1–2 мм, время экстракции 60 минут на кипящей водяной бане, объем аликвоты 1 мл, количество 2 % р-ра $AlCl_3$ – 1 мл (стабилизация комплекса наблюдается через 45 минут и сохраняется в течение 1 часа) (рис. 6, 7).

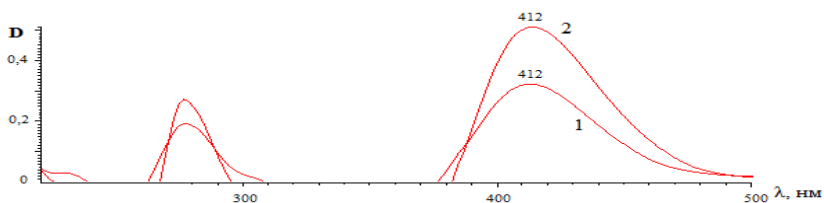


Рисунок 5 – Дифференциальные спектры спиртового извлечения *B. multinerve* (1) и рутина (2) в присутствии алюминия хлорида.

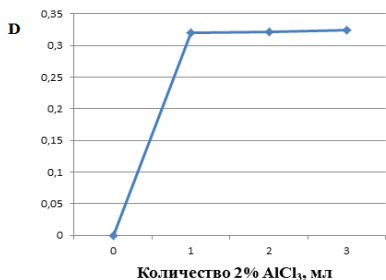


Рисунок 6 – Зависимость оптической плотности флавоноидов *B. multinerve* с алюминия хлоридом от его количества.

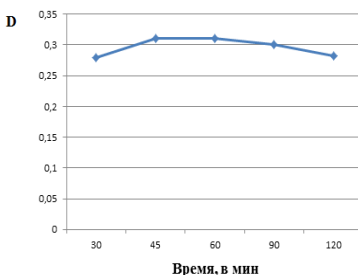


Рисунок 7 – Стабильность комплекса флавоноидов *B. multinerve* с алюминия хлоридом во времени.

Полученные результаты использованы для разработки методики количественного определения флавоноидов в сырье *B. multinerve*. Относительная ошибка методики при девяти независимых определениях находится в пределах $\pm 3,20$ % (табл. 9).

Таблица 9 – Метрологические характеристики методики количественного определения флавоноидов в сырье *Bupleuri multinervis herba*

| f | \bar{x} | S | $S \bar{x}$ | P, % | t(P,f) | $\Delta \bar{x}$ | \bar{E} , % |
|---|-----------|---------|-------------|------|--------|------------------|---------------|
| 8 | 3,39 | 0,14111 | 0,04704 | 95 | 2,31 | 0,11 | $\pm 3,20$ |

Опыты с добавками СО рутина в трех концентрациях показали, что относительная ошибка опытов находится в пределах относительной ошибки методики, что указывает на отсутствие систематической ошибки (табл. 10).

Таблица 10 – Результаты опытов с добавками СО рутина к *Vupleuri multinervis herba*

| Содержание СФВМ в аликвоте, мкг | Количество СОР, добавлено к аликвоте, мкг | Рассчитанное количество СФВМ+СОР, мкг | Найдено СФВМ+СОР, мкг | Ошибка | |
|---------------------------------|---|---------------------------------------|-----------------------|------------|----------|
| | | | | абс. в мкг | отн. в % |
| 339,11 | 20 | 359,11 | 362,70 | +3,59 | 1,00 |
| 339,11 | 20 | 359,11 | 348,12 | -10,99 | 3,06 |
| 339,11 | 20 | 359,11 | 364,85 | +5,74 | 1,60 |
| 339,11 | 40 | 379,11 | 384,10 | +4,99 | 1,32 |
| 339,11 | 40 | 379,11 | 386,15 | +7,04 | 1,86 |
| 339,11 | 40 | 379,11 | 375,28 | -3,83 | 1,01 |
| 339,11 | 80 | 419,11 | 425,80 | +6,69 | 1,60 |
| 339,11 | 80 | 419,11 | 402,44 | -12,67 | 3,02 |
| 339,11 | 80 | 419,11 | 402,15 | +6,96 | 1,66 |

Примечание: СФВМ – сумма флавоноидов володушки многожилковой, СОР – стандартный образец рутина.

Валидационная оценка предложенной методики показала соответствие критериям – линейность, правильность, прецизионность, специфичность.

По результатам анализа 5 партий сырья *Vupleuri multinervis herba* (табл. 11) рекомендована норма содержания суммы флавоноидов в сырье «не менее 2 %».

Таблица 11 – Результаты количественного определения суммы флавоноидов в сырье *Vupleuri multinervis herba*

| № партии | Место сбора | Содержание суммы флавоноидов в % |
|----------|--|----------------------------------|
| 1 | Иркутская область, окр., Качугский р-он, с. Верхоленик | 3,39±0,11 |
| 2 | Иркутская область, Усть-Ордынский Бурятский округ, окр. с. Баяндай | 2,65±0,09 |
| 3 | Иркутская область, Усольский р-он, окр. с. Мишелевка | 3,45±0,09 |
| 4 | Республика Хакасия, окр. с. Чапаево | 3,55±0,10 |
| 5 | Иркутская область, окр. г. Свирска | 3,66±0,08 |

Минеральные вещества растения представлены 8 макро-, 64 микро- и ультрамикрорезультатами. По содержанию мышьяка и тяжелых металлов образцы сырья соответствовали требованиям ГФ XIV издания.

Предложены дополнительные числовые показатели для включения в проект ФС на траву *V. multinerve*: золы общей не более 10 %; золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, не более 3 %; содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, не менее 20 %, а также показатели по степени измельченности сырья.

Разработка экстракта сухого на основе сбора ангиопротекторного

Для получения экстракта сухого из сбора ангиопротекторного был выбран метод мацерации в динамических условиях. Определены оптимальные параметры получения экстракта: экстрагент – 40 % спирт; размер частиц сырья – 1–2 мм; соотношение сырья и экстрагента 1:16; температура экстракции 60 °С. Продолжительность ступеней экстракции: 1-я ступень – 90 минут, 2-я ступень – 60 минут, 3-я ступень – 30 минут. Эффективность экстракции для суммы флавоноидов составила 79,95 %; суммы фенолкарбоновых кислот – 80,36 %, экстрактивных веществ – 95,38 %. Экстракту сухому из сбора ангиопротекторного дано название «Ангиофитон».

Методом МК-ВЭЖХ-УФ в экстракте «Ангиофитон» идентифицировано 6 флавоноидов и 1 фенолкарбоновая кислота. По химическому составу фенольных соединений и элементам экстракт «Ангиофитон» соответствует сбору, отличаясь более высоким их содержанием.

Для определения подлинности экстракта «Ангиофитон» предложены качественные реакции обнаружения флавоноидов и тритерпеновых сапонинов, ТСХ флавоноидов со СО рутина и кверцетина.

Для стандартизации экстракта по содержанию БАВ использовали методики количественного анализа, рекомендованные для сбора ангиопротекторного.

Относительная ошибка методики определения суммы флавоноидов не превышала $\pm 2,16$ %, суммы фенолкарбоновых кислот – не более $\pm 2,19$ % (табл. 12).

Таблица 12 – Метрологические характеристики методик количественного определения суммы флавоноидов и суммы фенолкарбоновых кислот в экстракте «Ангиофитон»

| \bar{x} | f | S | P, % | $S\bar{x}$ | $\Delta\bar{x}$ | t(P,f) | $\bar{E}, \%$ |
|-------------------------|---|---------|------|------------|-----------------|--------|---------------|
| Флавоноиды | | | | | | | |
| 7,63 | 8 | 0,21448 | 95 | 0,07149 | 0,16 | 2,31 | $\pm 2,16$ |
| Фенолкарбоновые кислоты | | | | | | | |
| 8,57 | 8 | 0,24454 | 95 | 0,08151 | 0,19 | 2,36 | $\pm 2,19$ |

Валидация показала соответствие методик показателям линейность, прецизионность, специфичность и правильность.

По результатам анализа 5 серий экстракта «Ангиофитон» установили норму содержания суммы флавоноидов не менее 6 %, фенолкарбоновых кислот не менее 6,5 %. При изучении стабильности экстракта «Ангиофитон» определили срок годности 2 года.

ВЫВОДЫ

1. Препараты, используемые для лечения и профилактики заболеваний вен, выпускаются в различных лекарственных формах, содержат вещества природного, синтетического и полусинтетического происхождения, из них около 50 % – средства импортного производства; многокомпонентные растительные препараты представлены в ограниченном количестве и составляют 4,8 %.

2. На основании существующих подходов при разработке сборов, данных по содержанию биологически активных веществ и результатов фармакологических исследований предложен рациональный состав сбора ангиопротекторного.

3. В составе БАВ сбора ангиопротекторного содержатся флавоноиды (рутин, изокверцитрин, нарциссин, изорамнетин-3-*O*-глюкозид, кверцетин, изорамнетин, кемпферол, гиперозид, гисперидин, спиреозид), дубильные вещества, сапонины (календулозиды А и В, эсцин), аминокислоты, антоцианы (цианидин-3-*O*-глюкозид, цианидин-3-*O*-арабинозид), кумарины, органические кислоты, β-каротин, аскорбиновая кислота, фенолкарбоновые кислоты; в составе эфирного масла идентифицирован 21 компонент (преобладают метилсалицилат, салициловый альдегид); минеральный состав представлен 72 элементами, включая кальций, натрий, железо, магний, цинк, фосфор, марганец.

4. Установлены макро- и микроскопические диагностические признаки, позволяющие идентифицировать все компоненты сбора, а также предложены качественные реакции обнаружения флавоноидов, тритерпеновых сапонинов и ТСХ флавоноидов; стандартизацию сбора ангиопротекторного предложено проводить спектрофотометрическим методом по сумме флавоноидов (не менее 3 %) и сумме фенолкарбоновых кислот (не менее 2,5 %).

5. В состав фенольных соединений сырья *Vupleuri multinervis herba* входят 8 флавоноидов и 7 фенолкарбоновых кислот; впервые установлено содержание 2 флавоноидов (кверцетин-3-*O*-глюкуроид, астрагалин) и 5 фенолкарбоновых кислот (5-*O*-*n*-кумароилхинная кислота, 5-*O*-ферулоилхинная кислота, 3-*O*-ферулоилхинная кислота, 3,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота, 4,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота); для стандартизации сырья установлены его анатомо-диагностические признаки, предложен спектрофотометрический метод количественного определения флавоноидов с использованием СО рутина; раздел испытания дополнен определением показателей: золы общей «не более 10 %»; золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, «не более 3 %»; содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, «не менее 20 %».

6. Разработана и предложена технология получения экстракта сухого «Ангиофитон», разработаны показатели оценки его подлинности (качественные реакции, ТСХ), предложены и валидированы методики

спектрофотометрического количественного определения суммы флавоноидов (не менее 6 %) и фенолкарбоновых кислот (не менее 6,5 %).

7. Разработаны и предложены проекты ФС на сбор ангиопротекторный, ФС на сырье *Bupleuri multinervis herba*, ФСП на экстракт сухой «Ангиофитон».

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Минович, В. М. Химический состав и анатомо-диагностические признаки плодов аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.), культивируемой в Прибайкалье / В. М. Минович, А. А. Посохина, Е. С. Костенко, Н. Г. Иванкина // Инновационные технологии в фармации : сборник научных трудов. – Иркутск, 2019. – С. 274–277.

2. Минович, В. М. Флавоноиды и фенолкарбоновые кислоты растительного сбора ангиопротекторного действия / В. М. Минович, А. А. Посохина, С. А. Петухова // Инновационные технологии в фармации : сборник научных трудов. – Иркутск : ИГМУ, 2019. – Вып. 6. – С. 296–299.

3. Посохина, А. А. Количественное определение суммы флавоноидов в траве володушки многожилчатой / А. А. Посохина, В. О. Макарова // Природные соединения и здоровье человека : материалы Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Иркутск : ИГМУ, 2019. – Вып. 1. – С. 56.

4. Посохина, А. А. К разработке растительного сбора ангиопротекторного действия / А. А. Посохина // Природные соединения и здоровье человека : материалы Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Иркутск : ИГМУ, 2019. – Вып. 1. – С. 55.

5. Посохина, А. А. Содержание фенольных соединений в растительном сборе «Ангиофит» / А. А. Посохина // Актуальные вопросы современной медицины : материалы 86-й Всероссийской Байкальской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием, посвященной 100-летию ИГМУ. – Иркутск : ИНЦХТ, 2019. – С. 628–629.

6. Посохина, А. А. Разработка показателей подлинности растительного сбора ангиопротекторного / А. А. Посохина // Актуальные вопросы современной медицины: материалы 87-й Всероссийской Байкальской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием. – Иркутск: ИНЦХТ, 2020. – С. 77.

7. Минович, В. М. К разработке компонентного состава растительной композиции ангиопротекторного действия / В. М. Минович, А. А. Посохина, С. А. Петухова, А. В. Цыренжапов // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – № 2. – С. 179–184.

8. Петухова, С. А. Флавоноиды и фенилпропаноиды надземных органов володушки многожилковой (*Bupleurum multinerve* DC.) флоры

Прибайкалья / С. А. Петухова, В. М. Миpович, Д. Н. Оленников, А. А. Посохина // Химия растительного сырья. – 2020. – № 4. – С. 121–128.

9. Миpович, В. М. Изучение противовоспалительной активности растительной композиции «Ангиофитон» / В. М. Миpович, А. В. Цыренжапов, А. А. Посохина, С. А. Петухова // Инновационные технологии в фармацевции: сборник научных трудов. – Иркутск: ИГМУ, 2020. – Вып. 7. – С. 151–154.

10. Посохина, А. А. Определение норм товароведческих показателей в сборе ангиопротекторном / А. А. Посохина // Природные соединения и здоровье человека: материалы Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Иркутск, 2020. – С. 123–127.

11. Патент № 2729784. Российская Федерация. Растительный сбор, обладающий антиоксидантным, противовоспалительным и капилляроукрепляющим действием / В. М. Миpович, А. А. Посохина, С. А. Петухова, А. В. Цыренжапов. – № 2020100538; заявл. 09.01.2020; опубл. 12.08.2020. – Бюл. № 23.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БАВ – биологически активные вещества

БХ – бумажная хроматография

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГФ – Государственная фармакопея

МК-ВЭЖХ-УФ – микроколоночная высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детектированием

РФ – Российская федерация

СО – стандартный образец

ТСХ – тонкослойная хроматография

УВЭЖХ-ДМД-ИЭР-МС – ультравысокоэффективная жидкостная хроматография с диодноматричным и масс-спектрометрическим детектированием

ФС – фармакопейная статья

ФСП – фармакопейная статья предприятия

ЭГКГ – эпигаллокатехингаллат