

СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ

Научная статья

УДК 615.322+543.062

<https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-2-47-60>



Вопросы использования стандартных образцов при анализе лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов

Т. К. Рязанова  , В. А. Куркин 

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара, Россия,
 t.k.ryazanova@samsmu.ru

Аннотация: Необходимость усовершенствования фармакопейных подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов (ЛРП), обеспечения выполнения принципа «сквозной» стандартизации в ряду «лекарственное растительное сырье – фитосубстанция – лекарственный растительный препарат» обуславливают актуальность разработки новых, более рациональных подходов к анализу объектов растительного происхождения.

Целью исследования являлось теоретико-экспериментальное обоснование использования стандартных образцов при разработке методик количественного анализа на примере некоторых видов растительного сырья и препаратов на его основе с позиции химического состава, стабильности и физико-химических свойств содержащихся в них биологически активных соединений.

Количественное определение действующих веществ проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием хроматографа «Милихром-6» со спектрофотометрическим детектором в ультрафиолетовой (УФ-) области. Регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40». Результаты измерений обрабатывали с помощью программ WinASPECT и Microsoft Excel 2016.

В результате исследования разработаны и валидированы методики количественного определения сирингина в коре сирени обыкновенной и в корневищах и корнях элеутерококка колючего, розавина и салидрозида в корневищах и корнях родиолы розовой, арбутина в листьях толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной, изосалипурпозиды в цветках бессмертника песчаного, суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного. Предложены спектрофотометрические методики определения суммы биологически активных фенолпропаноидов в пересчете на элеутерозид В (сирингин) в ЛРС и ЛРП элеутерококка колючего и суммы аралозидов в корнях аралии маньчжурской. На основе полученных данных научно обосновано использование в методиках анализа стандартных образцов сирингина (сирени обыкновенной кора, элеутерококка колючего корневища и корни), розавина и салидрозида (родиолы розовой корневища и корни), суммы аммонийных солей аралозидов (аралии маньчжурской корни), арбутина (толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной листья), смеси алоинов А и В (алоэ древовидного листья свежие). Сформулирована концепция системного подхода к анализу лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе.

Ключевые слова: лекарственное растительное сырье, лекарственные растительные препараты, биологически активные соединения, стандартные образцы, стандартизация, высокоэффективная жидкостная хроматография, спектрофотометрия

Используемые сокращения: БАС – биологически активные соединения; ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ЛРС – лекарственное растительное сырье; ЛРП – лекарственные растительные препараты; СО – стандартный образец.

Ссылка при цитировании: Рязанова Т. К., Куркин В. А. Вопросы использования стандартных образцов при анализе лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов // Эталоны. Стандартные образцы. 2023. Т. 19, № 2. С. 47–60. <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-2-47-60>

Статья поступила в редакцию 13.11.2022; одобрена после рецензирования 05.03.2023; принята к публикации 25.03.2023.

REFERENCE MATERIALS

Research Article

The Use of Reference Materials In the Analysis of Medicinal Plant Raw Materials and Herbal Medicinal Products

Tatyana K. Ryazanova  , Vladimir A. Kurkin 

Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Samara, Russia,
 t.k.ryazanova@samsmu.ru

Abstract: The need to improve pharmacopoeial approaches to the standardization of medicinal plant raw materials (MPRMs) and herbal medicinal products (HMPs), and the need to ensure the implementation of the principle of «cross-cutting» standardization in the series «medicinal plant raw material – phyto-substance – herbal medicinal product» determine the relevance of developing new, more rational approaches to the analysis of objects of plant origin.

The purpose of the research was the theoretical and experimental substantiation of the use of reference materials in the development of assay procedures on the example of certain types of plant raw materials and products based on it from the standpoint of the chemical composition, stability and physicochemical properties of the biologically active compounds contained in them.

Assay of active substances was carried out by high performance liquid chromatography (HPLC) using a Milichrome-6 chromatograph with a spectrophotometric detector in the ultraviolet (UV-) region. The UV spectra were recorded using a Specord 40 spectrophotometer. The measurement results were processed using the WinASPECT and Microsoft Excel 2016 programs.

As a result of research, procedures for assay of syringin in the bark of *Syringa vulgaris*, and in the rhizomes and roots of *Eleutherococcus senticosus*, rosavin and salidroside in the rhizomes and roots of *Rhodiola rosea*, arbutin in the leaves of *Arctostaphylos uva-ursi* and *Vaccinium vitis-idaea*, isosalipurposide in the flowers of *Helichrysum arenarium*, the amount of anthracene derivatives in fresh leaves of *Aloe arborescens* were developed and validated. Spectrophotometric methods for determining the amount of biologically active phenylpropanoids in terms of eleutheroside B (syringin) in MPRMs and HMPs of *Eleutherococcus senticosus* and the amount of aralosides in the roots of *Aralia Manchurian* were introduced. Based on the data obtained, the scientific rationale for the use of reference materials of syringin (*Syringa vulgaris* bark, *Eleutherococcus senticosus* rhizomes and roots), rosavin and salidroside (*Rhodiola rosea* rhizomes and roots), the sum of ammonium salts of aralosides (*Manchurian aralia* root), arbutin (*Arctostaphylos uva-ursi* and *Vaccinium vitis-idaea* leaves), mixtures of aloins A and B (*Aloe arborescens* fresh leaves) in the analysis procedures was provided. The concept of a systematic approach to the analysis of medicinal plant raw materials and products based on it was formulated.

Keywords: medicinal plant raw materials, herbal medicinal products, biologically active compounds, reference materials, standardization, high performance liquid chromatography, spectrophotometry

Abbreviations used: BACs – biologically active compounds; HPLC – high performance liquid chromatography; MPRM – medicinal plant raw material; HMP – herbal medicinal product; RM – reference material.

For citation: Ryazanova T. K., Kurkin V. A. The use of reference materials in the analysis of medicinal plant raw materials and herbal medicinal products. *Measurement Standards. Reference Materials*. 2023;19(2):47–60. <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-2-47-60>

The article was submitted 13.11.2022; approved after reviewing 05.03.2023; accepted for publication 25.03.2023.

Введение

Лекарственные растительные препараты (ЛРП) составляют значительную часть объемов продаж на фармацевтическом рынке. В то же время одной из проблем при разработке ЛРП является идентификация лекарственного растительного сырья (ЛРС). Решение этой проблемы заключается в комбинации физических, физико-химических, химических и биологических методов анализа [1]. При этом проблемными моментами являются условия пробоподготовки, выбор анализируемых веществ (индивидуальное вещество, группа биологически активных соединений (БАС), метода анализа и стандартного образца (СО) вещества, в пересчете на которое рассчитывается содержание БАС [2–7]. Сравнение методик анализа ЛРС и ЛРП показывает, что актуальной проблемой остается неабсолютное применение принципа «сквозной» стандартизации в ряду «сырье-субстанция-препарат» [5–7].

Одним из примеров необходимости актуализации фармакопейных требований являются несовершенства методик анализа ЛРС, содержащего различные группы БАС: простые фенолы (листья толокнянки обыкновенной, брусники обыкновенной), фенилпропаноиды (корневища и корни элеутерококка колючего и родиолы розовой, кора сирени обыкновенной), флавоноиды (цветки бессмертника песчаного), сапонины (корни аралии маньчжурской), антраценпроизводные (листья алоэ древовидного) [8, 9].

Например, для определения арбутина в листьях толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания используется спектрофотометрическая методика, предусматривающая предварительную очистку водно-этанольного извлечения путем фильтрования через слой алюминия оксида [10]. В соответствии с Европейской и Американской растительной фармакопеями определение арбутина проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [11–13]. В ВЭЖХ-методиках предусмотрено использование метанола, обращение с которым

требует выполнения определенных условий. Известны также фотоколориметрический метод, основанный на реакции азосочетания с азосоединением, и хроматоспектрофотометрический метод оценки содержания арбутина [13–16].

Фармакопейная методика количественного определения действующих веществ сырья аралии маньчжурской характеризуется многостадийностью и трудоемкостью. Методика включает экстракцию метанолом в течение 7 часов в аппарате Сокслета в сочетании со стадией кислотного гидролиза, осаждение сапогенина (олеаноловой кислоты) путем добавления равного объема воды к метанольному извлечению, очистку осадка сапогенина, растворение в смеси метанола и изобутилового спирта с последующим потенциометрическим титрованием 0,1 н раствором натрия гидроксида в смеси метанола и бензола [10]. Известны методики количественного определения сапонинов методом ультрафиолетовой спектрофотометрии [17].

Стандартизация сырья и препаратов родиолы розовой в ГФ РФ XIV издания (ФС.2.5.0036.15 «Родиолы розовой корневища и корни» и ФС.3.4.0008.18 «Родиолы розовой корневищ и корней экстракт жидкий») предусматривает количественное определение содержания салидрозиды и суммы гликозидов коричневого спирта в пересчете на розавин [10]. Анализ проводят методом ВЭЖХ с УФ-детектированием (219 нм – определение салидрозиды, 250 нм – определение суммы гликозидов коричневого спирта в пересчете на розавин). В то же время вызывает сомнение целесообразность определения суммы гликозидов коричневого спирта в пересчете на розавин. Розавин является наиболее лабильным соединением, который по сравнению с другими гликозидами коричневого спирта более чувствителен к условиям получения и хранения сырья в связи с возможностью ферментативного разрушения под воздействием фермента вицианоцидазы. Кроме того, используемая в фармакопейной методике для детекции салидрозиды длина волны 219 нм менее специфична по отношению к сопутствующим компонентам

по сравнению с другим максимумом поглощения этого соединения – 278 нм (рис. 1) [18, 19].

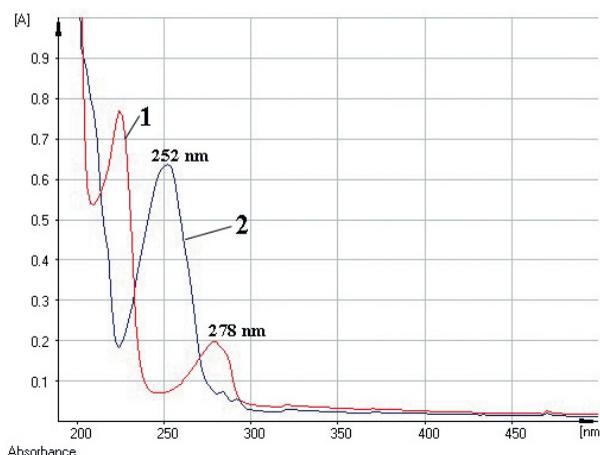


Рис. 1. УФ-спектры поглощения салидрозида (1) и розавина (2) (растворитель – 95 % этанол)

Fig. 1. UV absorption spectra of salidroside (1) and rosavin (2) (solvent – 95 % ethanol)

Для стандартизации сырья и препаратов элеутерококка колючего применяются разные подходы. В Европейской фармакопее (10 издание) стандартизация сырья элеутерококка колючего предусматривает качественный анализ сырья элеутерококка методом ТСХ в присутствии СО эскулина и каталпола, количественное определение суммы элеутерозидов В и Е с использованием в качестве стандарта феруловой кислоты методом ВЭЖХ в градиентном режиме элюирования с детекцией при длине волны 220 нм, при этом три указанных стандарта не содержатся в сырье [11]. В Российской Федерации в фармакопейной статье «Элеутерококка колючего корневища и корни»¹ качественный анализ основных групп БАС включает методы тонкослойной хроматографии в присутствии СО элеутерозида В (синоним: сирингин), качественные реакции и ВЭЖХ [10]. Для оценки подлинности жидкого экстракта из корневищ и корней элеутерококка используют методы ВЭЖХ, УФ-спектрофотометрии и качественные реакции [10]². Количественно определяли содержание элеутерозида В методом ВЭЖХ и суммы элеутерозидов спектрофотометрическим методом [10]. В то же время элеутерозиды представляют собой различные классы БАС, поэтому

¹ ФС.2.5.0053.15 Элеутерококка колючего корневища и корни // Фармакопея.рф. URL: <https://pharmacopoeia.ru/fs-2-5-0053-15-eleuterokokka-kolyuchego-kornevishha-i-korni>

² ФС.3.4.0009.18 «Элеутерококка колючего корневищ и корней экстракт жидкий // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.: 2018 год.

возникает вопрос относительно целесообразности и возможности определения их суммы. Кроме этого, открытым остается вопрос об оптимальном экстрагенте для извлечения элеутерозида В (сирингина) и суммы биологически активных элеутерозидов, поскольку в пробоподготовке для определения количественного содержания в фармакопейной методике используют 70 % этанол, в то время как для получения жидкого экстракта используется 40 % этанол [10]. Поэтому актуальным является усовершенствование существующих нормативных подходов и требований к качеству корневищ и корней элеутерококка колючего, принятых в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания.

Кроме этого, целесообразна разработка унифицированной методики для определения элеутерозида В в коре сирени обыкновенной, так как кора предложена в качестве источника получения фармакопейного СО сирингина (ВФС 42-2088-92 «Сирингин-стандартный образец»). Для определения содержания сирингина в коре сирени используются спектрофотометрические, хроматоспектрофотометрические методы, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии [20]. Несмотря на биологическую активность и значимость в качестве сырья для получения фармакопейного стандартного образца сирингина, кора сирени обыкновенной не включена в ГФ РФ XIV издания [10]. Оценка качества сырья сирени обыкновенной осуществляется в соответствии с ВФС 42-2106-92 «Кора сирени обыкновенной», в которой предусмотрено хроматоспектрофотометрическое определение сирингина.

Согласно ФС.2.5.0007.1 «Бессмертника песчаного цветки»³ стандартизация этого вида ЛРС осуществляется по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на изосалипурпозид [10]. С учетом того обстоятельства, что цветки бессмертника песчаного служат источником получения СО изосалипурпозид, целесообразным представляется разработка методики количественного определения именно этого соединения в ЛРС бессмертника методом ВЭЖХ [21–23].

Стандартизацию видов алоэ в Британской, Японской, Европейской фармакопеех и Фармакопее США проводят по содержанию барбалоина (алоина А) спектрофотометрическим методом [11, 12, 24–27]. В Российской Федерации в представленных на сайте Министерства здравоохранения проектах фармакопейных статей «Алоэ древовидного листья свежие» и «Алоэ древовидного листья» (взамен ФС 42-2191-84 и ФС 42-2800-91

³ ФС.2.5.0007.1 Бессмертника песчаного цветки // Фармакопея.рф. URL: <https://pharmacopoeia.ru/fs-2-5-0007-15-bessmertnika-peschanogo-tsvetki/>

соответственно) количественное определение также предусмотрено проводить спектрофотометрическим методом с пересчетом содержания суммы антраценпроизводных на алоэ-эмодин. Все описанные в литературе методики многостадийны, предусматривают предварительный кислотный гидролиз в сочетании с окислением, жидкость-жидкостную экстракцию образовавшихся агликонов и последующее комплексообразование с магния ацетатом [24–28].

На основании вышесказанного целью работы являлось теоретико-экспериментальное обоснование использования СО при разработке методик количественного анализа на примере некоторых видов растительного сырья и препаратов на его основе с позиции химического состава, стабильности и физико-химических свойств содержащихся в них БАС.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись образцы ЛРС и ЛРП: промышленные образцы корней аралии маньчжурской (ООО «Экогрин», 2014 г.); промышленные образцы «Аралии настойка» (ОАО «Дальхимфарм» и ОАО «Тверская фармацевтическая фабрика»); листья брусники обыкновенной, заготовленные в Республике Марий Эл, Волжский район, г. Волжск, 2018 г.; листья толокнянки обыкновенной, заготовленные в Республике Марий Эл, Волжский район, г. Волжск, 2018 г.; образцы корневищ и корней родиолы розовой, заготовленные в Алтайском крае в 2016–2018 гг.; экспериментальные и промышленные образцы экстракта жидкого корневищ и корней родиолы розовой (экстрагент – 40 % этанол); образцы коры сирени обыкновенной, заготовленные в 2018–2020 г. в Ботаническом саду Самарского университета, в Самарской (с. Верхний Сускан, с. Ермаково) и Саратовской (с. Натальино) областях; образцы корневищ и корней элеутерококка колючего, заготовленные в Хабаровском крае в 2015–2018 гг.; свежие листья алоэ древовидного, культивируемого на кафедре фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, собранные в летне-осенний период 2020 г.; полученный *ex tempore* сок из свежих листьев алоэ древовидного; лекарственные препараты «Алоэ сок» (производитель ЗАО «Вифитех»), «Алоэ экстракт жидкий», раствор для подкожного введения двух разных производителей (ЗАО «Вифитех», ОАО «Дальхимфарм»).

Использование инструментальных методов анализа предполагает наличие СО. В Российской Федерации проблемы обеспечения СО лекарственных средств (ЛС) включают недостаточное производство национальных фармакопейных СО, длительность поставки,

высокая стоимость зарубежных фармакопейных СО (Европейская, Британская фармакопеи, Фармакопея США) [1–3]. В связи с этим в ряде случаев, когда методики предусматривали использование СО, нами были получены субстанции (смесь аммонийных солей аралозидов, барбалоин) или индивидуальные вещества (арбутин, сиригин, розавин, салидрозид, изосалипурпозид), соответствующие требованиям к СО по данным качественных и количественных анализов, масс-спектрометрии, ^1H и ^{13}C -ЯМР-спектроскопии [10, 11]. Для деления индивидуальных соединений проводили жидкостную колоночную хроматографию приготовленных в лабораторных условиях водно-этанольных извлечений из растительного сырья (экстрагент – 70 % этиловый спирт, соотношение «сырье: экстрагент» 1:5) с использованием сорбента силикагель марки L 40/100 мкм (Чехия) [29–37]. Элюирование осуществляли смесями растворителей хлороформ-спирт этиловый 95 % в различных соотношениях (100:0 → 0:100). Контроль за ходом хроматографического разделения осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» в системе хлороформ : 95 % этанол : вода 26 : 16 : 3 (об./об./об.) с детектированием в ультрафиолетовом свете зон гашения люминесценции (при 254 нм) и люминесцирующих зон (при 366 нм) с использованием хроматографического облучателя (ультрафиолетовый комплекс «УФК-254/365», производитель ООО «Петролазер»), а также фиксировали окрашенные зоны при естественном освещении после обработки пластин раствором диазобензолсульфокислоты в насыщенном растворе натрия карбоната. Для последующей очистки проводили повторное хроматографическое разделение на других сорбентах (полиамид, сефадекс LH-20) и подбирали условия для кристаллизации. Выход целевых веществ составлял не менее 60,0 % от их содержания в сырье, рассчитанного по данным количественных анализов. ^1H -ЯМР- и ^{13}C -ЯМР-спектры регистрировали с использованием ЯМР-спектрометров «Bruker AM 300» (300 МГц) и «Bruker DRX 500» (126,76 МГц). Масс-спектры электронного удара регистрировали на масс-спектрометре «Kratos MS-30» при энергии ионизирующих электронов 70 эВ и температуре ионного источника 250 °С.

В общем случае подготовка для целей количественного определения БАС проводилась следующим образом: около 1 г сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, (точная навеска) помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 см³, прибавляли 30–50 см³ водно-этанольной смеси (количество растворителя и состав

смести зависел от ЛРС и анализируемых БАС). Колбу закрывали пробкой и взвешивали с точностью до $\pm 0,01$ г, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу охлаждали в течение 30 мин., закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр (красная полоса). Для хроматографических исследований раствор дополнительно фильтровали через мембранный фильтр Millipore (0,45 мкм).

Приготовление растворов СО заключалось в растворении 0,025–0,030 г (точная навеска) веществ в подходящем растворителе в мерной колбе вместимостью 50 мл, доведении объема раствора до метки тем же растворителем.

Для каждого из объектов определяли условия пробоподготовки для последующего анализа. С этой целью сравнивали экстракционную способность различных экстрагентов (вода очищенная, 40 %, 70 % и 95 % этанол), изучали влияние времени экстракции (30, 60 или 90 мин.) и соотношения «сырье: экстрагент» (1:30; 1:50 и 1:100) на выход действующих веществ [29–37].

Регистрацию ультрафиолетовых спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena). ВЭЖХ-анализ осуществляли с использованием хроматографа «Милюхром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях обращенно-фазовой хроматографии в изократическом режиме элюирования: стальная колонка «КАХ-6–80–4» (2 мм x 80 мм; Сепарон-С18), подвижная фаза – ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в различных соотношениях, скорость элюирования – 100 мкл/мин., объем элюента – 1500–2500 мкл. Оптимальное соотношение компонентов подвижной фазы определяли по разрешению пиков, коэффициенту асимметрии пика. Расчет содержания БАС проводили методом внешнего стандарта, в качестве которого использовали выделенные из растительного сырья и идентифицированные индивидуальные вещества с установленной ранее методом массового баланса степень чистоты. Пригодность хроматографической системы оценивали в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0001.15 «Хроматография»⁴. Статистическую обработку результатов количественного определения проводили в соответствии с ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента»⁵. Валидацию

⁴ ОФС.1.2.1.2.0001.15 Хроматография // Фармакопей.пф. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-1-2-0001-15-hromatografiya/>

⁵ ОФС.1.1.0013.15 Статистическая обработка результатов химического эксперимента // Фармакопей.пф. URL: <https://>

методик осуществляли в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик»⁶. Правильность методик определяли методом добавок путем добавления водно-этанольного раствора, выделенного ранее идентифицированного индивидуального компонента с установленной степенью чистоты (кандидата в фармакопейные СО) к испытуемому раствору (80 %, 100 %, 120 % по отношению к содержанию вещества в извлечении).

Кроме этого, были получены экспериментальные образцы сиропов элеутерококка колючего, толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной. Сироп элеутерококка колючего получали на основе жидкого экстракта, содержание которого с учетом рекомендуемой дозы зарегистрированного препарата составило 5 % от общей массы сиропа. Сиропы из листьев толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной получали по стандартной технологии сиропов с использованием вместо воды очищенной отвара из растительного сырья. В качестве корригентов использовали сахарозу или сорбит. При оценке количественного содержания действующих компонентов пробоподготовку осуществляли путем разбавления аликвоты исследуемых образцов 10-кратным количеством 95 % этанола, полученные растворы выдерживали некоторое время до выпадения осадка и фильтровали через слой алюминия оксида (х. ч., нейтральный II по Брокману) высотой 0,5 см в стеклянном фильтре ПОР 100 диаметром 2 см в мерную колбу вместимостью 25 см³. Количественное определение биологически активных соединений в экспериментальных и коммерческих препаратах проводилось с использованием подходов, описанных для ЛРС, на основе которых эти препараты получали.

Результаты и обсуждение

В результате исследования с использованием метода ВЭЖХ разработаны и валидированы методики количественного определения арбутина в листьях толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной, сирингина в ЛРС и ЛРП сирени обыкновенной и элеутерококка колючего, розавина и салидрозиды в ЛРС и ЛРП родюлы розовой, арбутина в ЛРС и ЛРП толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной, изосалипурпозиды

pharmacopoeia.ru/wp-content/uploads/2016/11/OFS.1.1.0013.15-Statisticheskaya-obrabotka-rezultatov-eksperimenta.pdf
ОФС.1.2.1.2.0001.15 Хроматография // Фармакопей.пф. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-1-2-0001-15-hromatografiya/>

⁶ ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик // Фармакопей.пф. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-1-0012-15-validatsiya-analicheskikh-metodik/>

в ЛРС и ЛРП бессмертника песчаного. Оптимальные условия пробоподготовки и анализа, определенные по наибольшей концентрации извлекаемых БАС, представлены в табл. 1. Во всех случаях определено, что оптимальным временем экстракции из изученного диапазона (30, 60 и 90 мин.) было 60 мин.

Для всех методик подтверждена линейность зависимости высоты пика от концентрации анализируемого вещества в указанном в табл. 2 диапазоне, получены удовлетворительные метрологические характеристики по показателям правильности, повторяемости, промежуточной прецизионности.

С использованием разработанных методик определено количественное содержание действующих компонентов в ЛРС на основе исследуемых ЛРС с использованием принципа унификации подходов к анализу в ряду «ЛРС – фитосубстанция – ЛРП» (табл. 3).

Для тех случаев, когда затруднительно определить индивидуального компонента, вносящего наибольший вклад в биологическую активность ЛРС и ЛРП и/или в наибольшей степени подверженного процессам деструкции в процессе заготовки сырья и его хранения, были разработаны методики определения суммы БАС спектрофотометрическим методом.

В частности, нами были разработаны подходы для оценки количественного содержания суммы сапонинов (аралозидов) в сырье и препаратах аралии маньчжурской с использованием в качестве СО суммы аммонийных солей аралозидов, обозначаемых как «Сапарал». Для этого оптимизирована технологическая схема получения «Сапарала» [17]. Полученные в ходе наших исследований образцы сапарала представляли собой аморфный порошок кремового цвета без запаха с содержанием суммы аралозидов более

Таблица 1. Общая характеристика ВЭЖХ-методик анализа биологически активных соединений в исследуемом лекарственном растительном сырье

Table 1. The general characteristic of HPLC methods for the analysis of biologically active compounds in the studied medicinal plant raw materials

ЛРС	Экстрагент	Соотношение «сырье-экстрагент» (масса-объем)	Необходимость очистки (фильтрация через слой алюминия оксида)	Подвижная фаза – ацетонитрил – 1% раствор уксусной кислоты	Детекция	Определяемое вещество	Время удерживания компонентов, мин.
Листья толокнянки обыкновенной	40% этанол	1:50	Требуется	1:9	280 нм	арбутин	4,87±0,03*
Листья брусники обыкновенной	Вода очищенная	1:50	Требуется	1:9	280 нм	арбутин	4,87±0,03*
Кора сирени обыкновенной	70% этанол	1:30	Не требуется	15:85	266 нм	сирингин (элеутерозид В)	2,82±0,08
Корневища и корни элеутерококка колючего	40% этанол	1:50	Требуется	15:85	266 нм	сирингин (элеутерозид В)	2,84±0,08
Корневища и корни родиолы розовой	70% этанол	1:30	Не требуется	14:86	252 нм 278 нм	розавин салидрозид	12,82±0,07 2,98±0,07
Цветки бессмертника песчаного	70% этанол	1:50	Не требуется	25:75	360 нм	изосалипурпозид	12,84±0,08

Таблица 2. Метрологические характеристики ВЭЖХ-методик анализа биологически активных соединений в исследуемом лекарственном растительном сырье

Table 2. Metrological characteristics of HPLC methods for the analysis of biologically active compounds in the investigated medicinal plant raw materials

ЛРС (БАС)	\bar{X} , %	$\bar{\epsilon}$, % ($P=95\%$, $n=10$)	Диапазон концентрации для определения линейности (r^2)	Правильность (открываемость), %
Листья толокнянки обыкновенной (арбутин)	11,2	3,1	0,076–0,49 мг/мл (0,9994)	99,5
Листья брусники обыкновенной (арбутин)	4,8	2,1	0,076–0,49 мг/мл (0,9994)	99,5
Кора сирени обыкновенной (сирингин)	5,4	3,2	0,34–0,51 мг/мл (0,9997)	98,8
Корневища и корни элеутерококка колючего (сирингин)	0,089	3,3	0,34–0,51 мг/мл (0,9997)	98,3
Корневища и корни родиолы розовой (розавин)	1,4	4,4	0,12–0,96 мг/мл (0,9973)	100,4
Корневища и корни родиолы розовой (салидрозид)	2,9	4,7	0,15–1,47 мг/мл (0,99996)	99,1
Цветки бессмертника песчаного (изосалипурпозид)	1,45	4,1	0,20–1,40 мг/мл (0,9964)	97,8

Обозначения: \bar{X} – среднее значение; P – доверительная вероятность, $\bar{\epsilon}$ – относительная ошибка среднего результата, r^2 – коэффициент детерминации.

Таблица 3. Содержание действующих веществ в коммерческих и экспериментальных препаратах на основе исследуемых видов лекарственного растительного сырья

Table 3. The content of active ingredients in commercial and investigational products based on the studied types of medicinal plant raw materials

ЛРП	Тип ЛРП	Необходимость очистки (фильтрование через слой алюминия оксида)	Определяемое вещество	Содержание действующего вещества, %
Толокнянки сироп	Экспериментальный	Требуется	арбутин	$0,86 \pm 0,02$
Брусники сироп	Экспериментальный	Требуется	арбутин	$0,70 \pm 0,02$
Сирени обыкновенной настойка	Экспериментальный	Не требуется	сирингин (элеутерозид В)	$0,45 \pm 0,03$
Элеутерококка экстракт жидкий	Коммерческий	Требуется	сирингин (элеутерозид В)	От $0,065 \pm 0,003$ до $0,089 \pm 0,004$
Элеутерококка сироп	Экспериментальный	Требуется	сирингин (элеутерозид В)	От $0,0026 \pm 0,0003$ до $0,0029 \pm 0,0003$
Родиолы экстракт жидкий	Коммерческий	Не требуется	розавин салидрозид	От $0,21 \pm 0,03$ до $0,32 \pm 0,04$ От $0,96 \pm 0,04$ до $2,75 \pm 0,08$
Цветки бессмертника песчаного	Коммерческий	Не требуется	изосалипурпозид	От $1,22 \pm 0,03$ до $1,42 \pm 0,03$

80 % ($85,06 \pm 1,12$ %) в пересчете на аммонийную соль аралозидов А, В и С с усредненной молекулярной массой. Выход готового продукта составил 62,9–65,0 %.

Разработана методика количественного определения суммы сапонинов аралии (аралозидов) в сырье и препаратах аралии маньчжурской методом спектрофотометрии продуктов взаимодействия анализируемых веществ с концентрированной серной кислотой при аналитической длине волны 510 нм. Расчет количественного содержания проводили с использованием данных по «Сапаралу» или (в случае отсутствия стандартного образца «Сапарала») с использованием значения удельного показателя поглощения для «Сапарала» после взаимодействия с концентрированной серной кислотой с учетом содержания в нем суммы аралозидов –56,0. Для сырья установлено, что оптимальными условиями экстракции являются следующие условия: 70 % этанол, соотношение «сырье – экстрагент» 1:50, время экстракции – 60 мин. С использованием этой методики проанализировано содержание суммы сапонинов в образцах корней аралии маньчжурской (варьировало от $9,41 \pm 0,18$ % до $10,46 \pm 0,15$ %), а также в образцах коммерчески доступных настоек аралии маньчжурской (составляло от $1,51 \pm 0,05$ % до $1,72 \pm 0,06$ %).

Для сырья и препаратов элеутерококка колючего взамен фармакопейной методики по определению суммы элеутерозидов предложена методика определения суммы биологически активных фенилпропаноидов, которая заключается в получении водно-спиртового извлечения из корневищ и корней элеутерококка колючего, его очистке путем фильтрования через слой алюминия оксида с последующим спектрофотометрическим определением суммы фенилпропаноидов при аналитической длине волны 266 нм в пересчете на элеутерозид В (сирингин). Изучение влияния экстракционной способности различных водно-этанольных смесей показало, что наиболее оптимальным экстрагентом в отношении извлечения суммы фенилпропаноидов является 40 % этанол при соотношении «сырье: экстрагент» 1:50 и времени экстракции 60 мин. Метрологические характеристики спектрофотометрической методики определения суммы фенилпропаноидов в пересчете на элеутерозид В (с очисткой через слой алюминия оксида) свидетельствуют о том, что относительная ошибка среднего результата количественного определения в корневищах и корнях элеутерококка колючего с достоверной вероятностью 95 % составляет +4,20 %, в жидком экстракте – +6,24 %. Содержание суммы фенилпропаноидов в корнях и корневищах элеутерококка колючего варьировало от $0,30 \pm 0,02$ % до $0,37 \pm 0,02$ %.

Разработана и валидирована методика количественного определения суммы антраценпроизводных методом дифференциальной спектрофотометрии (максимум поглощения при длине волны 412 нм) в пересчете на барбалоин в ЛРС и ЛРП алоэ древовидного. В ходе разработки методики определено, что важными параметрами являются: состав экстрагента (40 % этанол), соотношение «сырье-экстрагент» – 1:50, время экстракции 60 мин. Подтверждена линейность зависимости значения оптической плотности от концентрации анализируемого вещества, получены удовлетворительные метрологические характеристики по показателям правильности, повторяемости, промежуточной прецизионности. Относительная ошибка среднего результата определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного с достоверной вероятностью 95 % составила $\pm 3,36$ %. В соответствии с принципами унификации и гармонизации аналитических подходов для ЛРС и ЛРП на его основе разработанная для анализа сырья методика была адаптирована нами для анализа, полученного *ex tempore* сока алоэ древовидного и лекарственных препаратов «Алоэ сок» (ЗАО «Вифитех»), «Алоэ экстракт жидкий», раствор для подкожного введения (ОАО «Дальхимфарм»; ЗАО «Вифитех»). Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин составило $0,50 \pm 0,02$ % в свежеприготовленном соке алоэ древовидного, $0,135 \pm 0,006$ % в препарате «Алоэ сок» и $0,020 \pm 0,001$ % в препаратах «Алоэ экстракт жидкий», раствор для подкожного введения.

В результате проведенных исследований сформулирована концепция системного подхода к анализу ЛРС и ЛРП, содержащих БАС ароматической и терпеноидной природы (рис. 2).

Основные положения этой концепции можно сформулировать следующим образом:

– при выборе метода анализа количественного определения действующих веществ следует учитывать целевое назначение ЛРС (источник СО, суммы БАС, экстракционные препараты и др.), фармакотерапевтическую значимость компонентов, технологические особенности (возможность выделения БАС из ЛРС) и стабильность БАС (имеются ли диагности значимые лабильные БАС).

– при выборе СО в фармакопейных методиках анализа следует использовать диагностически значимое вещество, присутствующее в растении, или вещество того же класса БАС с близкими физико-химическими характеристиками.

– принцип унификации подходов к оценке подлинности и количественному определению действующих



Рис. 2. Принципы системного подхода к анализу ЛРС и ЛРП

Fig. 2. The principles of a systematic approach to the analysis of medicinal plant raw materials and herbal medicinal products

веществ в ЛРС и полученных на его основе фармацевтических субстанциях и ЛРП.

Заключение

Таким образом, в результате исследований научно обосновано использование в методиках качественного и количественного анализа СО сиринагина (сирени обыкновенной кора, элеутерококка колючего корневища и корни), розавина и салидрозида (родиолы розовой корневища и корни), суммы аммонийных солей арализидов (аралии маньчжурской корни), арбутина (толокнянки обыкновенной листья, брусники обыкновенной листья), смеси алоинов А и В (алоэ древовидного листья свежие).

Разработаны и валидированы методики количественного определения сиринагина в ЛРС и ЛРП сирени обыкновенной и элеутерококка колючего, суммы биологически активных фенилпропаноидов в ЛРС и ЛРП элеутерококка колючего, розавина и салидрозида в ЛРС и ЛРП родиолы розовой, арбутина в ЛРС и ЛРП толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной, изосалипурпозидов в ЛРС и ЛРП бессмертника песчаного, суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалойн в ЛРС и ЛРП алоэ древовидного, суммы сапонинов аралии (арализидов) в корнях аралии маньчжурской.

Для унификации требований к качеству и мониторинга влияния технологического процесса на эффективность экстракции и стабильность БАС разработанные для ЛРС подходы к количественному определению действующих веществ следует использовать для

анализа полученных на его основе фармацевтических субстанций и ЛРП.

Благодарности:

Исследование было выполнено в рамках проекта «Разработка национальных подходов к стандартизации лекарственных растительных препаратов, лекарственного растительного сырья и фитобиотехнологических продуктов» при финансовой государственной поддержке в виде Стипендии Президента РФ для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики». Авторы выражают благодарность рецензентам за экспертное мнение и конструктивный подход.

Acknowledgments: The study was carried out within the project «Development of national approaches to the standardization of herbal medicinal products, medicinal plant raw materials and phytobiotechnological products» with financial government support in the form of a Scholarship of the President of the Russian Federation for young scientists and postgraduates carrying out promising research and development on priority directions of Russian economy modernization. The authors are grateful to the reviewers for their expert advice and constructive attitude.

Вклад соавторов: Рязанова Т. К. – проведение исследовательских работ, разработка методики, осуществление формального анализа, валидация, написание чернового варианта статьи; Куркин В. А. – разработка концепции исследования, интерпретация ¹H-ЯМР-,

¹³C-ЯМР-спектров, масс-спектров и УФ-спектров выделенных БАС, проверка и редакция текста статьи.

Contribution of the authors: Ryazanova T. K. – conducting research, development of a methodology, formal analysis, validation, writing a draft of the article; Kurkin V. A. – development of the research concept, interpretation of ¹H-NMR, ¹³C-NMR spectra, mass spectra and UV spectra of isolated BACs, revision of the text.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Материал статьи подготовлен на основе доклада, представленного на V Международной научной конференции

«Стандартные образцы в измерениях и технологиях» (Екатеринбург, 13–16 сентября 2022 г.). Переводная версия статьи на английском языке планируется к публикации в книге Sobina E. et al. (eds.). Reference Materials in Measurement and Technology. RMMT 2022. Switzerland: Springer, Cham.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest. The material of the article was prepared on the basis of the report presented at the V International Scientific Conference «Reference Materials in Measurement and Technology» (Yekaterinburg, September 13–16, 2022). A translated version of the article in English is planned for publication in the book Sobina E. et al. (eds.). Reference Materials in Measurement and Technology. RMMT 2022. Switzerland: Springer, Cham.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Самылина И. А., Куркин В. А., Яковлев Г. П. Научные основы разработки и стандартизации лекарственных растительных средств // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2016. № 1. С. 41–44.
2. Современные проблемы стандартных образцов лекарственных средств в Российской Федерации / Р. А. Волкова [и др.] // Фармация. 2020. Т. 69, № 2. С. 5–11. <https://doi.org/10.29296/25419218-2020-02-01>
3. Воронин А. В., Малкова А. В. Методология исследования отдельных многокомпонентных объектов аналитического контроля в судебно-химической экспертизе и фармацевтическом анализе: монография. Самара: Инсома-пресс, 2020. 328 с.
4. Леонтьев Д. А., Подпружников Ю. В., Воловик Н. В. Роль стандартных образцов в обеспечении качества лекарственных средств: регуляторные и метрологические аспекты // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 3(16). С. 180–188.
5. Современные требования к качеству лекарственных средств растительного происхождения / Е. И. Саканян [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2018. Т. 8, № 3. С. 170–178. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-3-170-178>
6. Сокольская Т. А., Шемерякина Т. Б., Даргаева Т. Д. Использование стандартных образцов для анализа лекарственных растительных препаратов // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2011. № 2. С. 43–46.
7. Требования к качеству и методам анализа фармакопейных стандартных образцов растительного происхождения / Т. Б. Шемерякина [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2014. № 1. С. 51–54.
8. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов / В. А. Куркин [и др.] // Современные проблемы фармакогнозии: сборник материалов I Межвузовской студенческой научно-практической конференции, посвященной 45-летию фармацевтического факультета Самарского государственного медицинского университета, Самара, 22 октября 2016. Самара: ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2016. С. 123–127.
9. Оленников Д. Н., Зилфикаров И. Н., Ибрагимов Т. А. Исследование химического состава алое древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) // Химия растительного сырья. 2010. № 3. С. 77–82.
10. Государственная Фармакопея Российской Федерации: XIV издание. В 4 т. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018. URL: <https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/xiv-izdanie-gosudarstvennoy-farmakopei-rossiyskoy-federatsii>
11. European Pharmacopoeia. 10th Ed. Version 1.7.0. [сайт]. URL: <https://pheur.edqm.eu/home> (дата обращения: 13.10.2022).
12. American herbal pharmacopoeia botanical pharmacognosy. botanical pharmacognosy – microscopic characterization of botanical medicines / R. Upton [et al.] eds. Florida, USA : CRC Press, 2011. 733 p. <https://doi.org/10.1201/b10413>
13. Моисеев Д. В. Определение арбутина в листьях брусники обыкновенной методом ВЭЖХ // Вестник фармации. 2011. № 1 (51). С. 40–45.
14. Федосеева Л. М. Анализ арбутина подземных и надземных вегетативных органов бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitch.), произрастающего на Алтае // Химия растительного сырья. 2003. № 1. С. 73–77.
15. Chemical information review document for arbutin [CAS No. 497–76–7] and Extracts from *Arctostaphylos uva-ursi* // Semantic scholar [website]. URL: <https://www.semanticscholar.org/paper/Chemical-Information-Review-Document-for-Arbutin/Od65672d2e6f910a0d9351786424f32cff65c089> (дата обращения: 12.12.2021).
16. EMA/HMPC/573462/2009 Rev.1 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., folium. 2012.
17. Kurkin V. A., Ryazanova T. K. Quantitative determination of total saponins in *Aralia mandshurica* plant raw material // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018. Vol. 52, № 5. P. 455–458. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1838-x>

18. О качестве сырья родиолы розовой / В. А. Куркин [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. 1989. Т. 23, № 11. С. 1364–1367.
19. Динамика накопления розавидина и салидрозидов в корневищах родиолы розовой / А. А. Кирьянов [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. 1989. Т. 23, № 4. С. 449–452.
20. Куркин В. А. Фенилпропаноиды лекарственных растений. Распространение, классификация, структурный анализ, биологическая активность // Химия природных соединений. 2003. № 2. С. 87–110.
21. Куркина А. В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография Самара: Офорт, ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. 290 с.
22. Куркина А. В. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды // Бюллетень сибирской медицины. 2011. № 5. С. 150–153. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2011-5-150-154>
23. Куркина А. В., Рыжов В. М., Авдеева Е. В. Определение содержания изосалипурпозидов в цветках бессмертника песчаного // Фармация. 2011. № 1. С. 12–14.
24. The United States Pharmacopeia and The National Formulary (USP 38-NF 33); The United States Pharmacopeial Convention. Inc.: Rockville, MD, 2015.
25. Japanese Pharmacopoeia, 18th ed. (English Version). The ministry of health, labour and welfare. 2021.
26. Сергунова Е. В., Сорокина А. А. Изучение показателей качества листьев алоэ древовидного различными способами консервации // Фармация. 2019. № 7(68). С. 21–25. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-07-04>
27. Olennikov D., Rokhin A., Zilfikarov I. Method for determining content of phenolic compounds in Aloe arborescens // Chemistry of Natural Compounds. 2008. Vol. 44. P. 715–718. <https://doi.org/10.1007/s10600-009-9192-6>
28. Modern aspects of pharmacognostic and biochemical study of succulent raw material of Aloe arborescens and Callisia fragrans / I. Zilfikarov [et al.]. Moscow Region, Schyolkovo: Publisher Marchotin P. Yu., 2013.
29. Количественное определение арбутина в листьях толочнянки обыкновенной / В. А. Куркин [и др.] // Химия растительного сырья. 2015. № 1. С. 95–100.
30. Определение арбутина в листьях брусники обыкновенной / В. А. Куркин [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. 2017. Т. 51, № 4. С. 34–37.
31. Куркин В. А., Рязанова Т. К., Серебрякова А. Д. Разработка подходов к стандартизации коры сирени обыкновенной // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021. Т. 24, № 7. С. 37–44. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-07-06>
32. Определение содержания алоэина в листьях и препаратах алоэ древовидного методом ВЭЖХ / В. А. Куркин [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. 2021. Т. 55, № 5. С. 13–18. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2021-55-5-13-18>
33. Куркин В. А., Рязанова Т. К. Актуальные аспекты стандартизации корневищ и корней родиолы розовой // Химико-фармацевтический журнал. 2021. Т. 55, № 8. С. 40–44. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2021-55-8-40-44>
34. Разработка методик количественного определения суммы антраценпроизводных в сырье и препаратах Aloe arborescens Mill // В. А. Куркин [и др.] // Химия растительного сырья. 2021. № 3. С. 153–161. <https://doi.org/10.14258/jcprp.2021039221>
35. Куркин В. А., Рязанова Т. К. Вопросы стандартизации лекарственных препаратов родиолы розовой // Фармация и фармакология. 2021. Т. 9, № 3. С. 185–194. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-3-185-194>
36. Куркин В. А., Рязанова Т. К. Методологические подходы к стандартизации корневищ и корней элеутерококка колючего // Химико-фармацевтический журнал. 2022. Т. 56, № 3. С. 34–41. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-3-34-41>
37. Рязанова Т. К., Куркина А. В., Куркин В. А. Разработка подходов к стандартизации сырья и препаратов бессмертника песчаного // От биохимии растений к биохимии человека: сборник трудов международной научной конференции, Москва, 16–17 июня 2022 г. М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2022. С. 237–241.

REFERENCES

1. Samylyna I. A., Kurkin V. A., Yakovlev G. P. Scientific basis of the development and standardization of herbal medicines. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2016;(1):41–44. (In Russ.).
2. Volkova R. A., Fadeikina O. V., Ustinnikova O. B., Sakanyan E. I., Merkulov V. A., Movsesyants A. A. et al. Current problems with the standard samples of medicines in the Russian Federation. *Farmatsiya*. 2020;69(2):5–11. (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/25419218-2020-02-01>
3. Voronin A. V., Malkova A. V. Methodology for the study of some multicomponent objects of analytical control in forensic chemical expertise and pharmaceutical analysis: monograph. Samara: Insoma-press; 2020. 328 p. (In Russ.).
4. Leontiev D. A., Podpruzhnikov Y. V., Volovky N. V. The role of reference standards in quality assurance for medicines: regulatory and metrological aspects. *Drug Development & Registration*. 2016;(3):180–188. (In Russ.).
5. Sakanyan E. I., Kovaleva E. L., Frolova L. N., Shelestova V. V. Current requirements for the quality of herbal medicinal products. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(3):170–178. (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-3-170-178>
6. Sokol'skaya T. A., Shemeryankina T. B., Dargaeva T. D. Use of reference standards for the analysis of herbal medicines. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2011;(2):43–46. (In Russ.).
7. Shemeryankina T. B., Sakanyan E. I., Merkulov V. A., Bunyatyan N. D., Kovalyova E. L., Mit'kina L. I. et al. The requirements for methods of analysis and the quality of pharmacopoeia reference standards for herbal medicines. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2014;(1):51–54. (In Russ.).

8. Kurkin V. A., Avdeeva E. V., Kurkina A. V., Pravdivtseva O. E. et al. The actual aspects of the standardization of medicinal plant materials and phytopharmaceuticals. In: *Modern problems of pharmacognosy. Collection of materials of the I Interuniversity student scientific and practical conference, dedicated to the 45th anniversary of the pharmaceutical faculty of the Samara State Medical University*, 22 October 2016, Samara, Russia. Samara: SamSMU; 2016. p. 123–127. (In Russ.).
9. Olennikov D. N., Zilfikarov I. N., Ibragimov T. A. Study of the chemical composition of *Aloe arborescens* Mill. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2010;(3):77–82. (In Russ.).
10. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. In 4 volumes. Moscow; 2018. Available at: <https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/xiv-izdanie-gosudarstvennoy-farmakopei-rossiyskoy-federatsii>
11. European Pharmacopoeia. 10th Ed. Available at: <https://pheur.edqm.eu/home> [Accessed: 13 October 2022].
12. American Herbal Pharmacopoeia Botanical Pharmacognosy. CRC Press; Boca Raton; Florida, USA: American Herbal Medicine Association, 2011. 733 p.
13. Moiseev D. V. Determination of arbutine in cowberry leaves by HPLC. *Vestnik farmatsii*. 2011;1(51):40–45. (In Russ.).
14. Fedoseeva L. M. Analysis of arbutin in underground and aboveground vegetative organs of the thick-leaved bergenia (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitch.) growing in Altai. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2003;(1):73–77. (In Russ.).
15. Chemical Information Review Document for Arbutin [CAS No. 497–76–7] and Extracts from *Arctostaphylos uva-ursi*. Available at: <https://www.semanticscholar.org/paper/Chemical-Information-Review-Document-for-Arbutin/0d65672d2e6f910a0d9351786424f32cff65c089> [Accessed: 12 December 2021].
16. EMA/HMPC/573462/2009 Rev.1 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., folium. 2012.
17. Kurkin V. A., Ryazanova T. K. Quantitative determination of total saponins in *Aralia mandshurica* plant raw material. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;52(5):455–458. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1838-x>
18. Kurkin V. A., Zapesochnaya G. G., Kiryanov A. A. et al. On the quality of raw materials of *Rhodiola rosea*. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 1989;23(11): 1364–1367. (In Russ.).
19. Kiryanov A. A., Bondarenko L. T., Kurkin V. A. et al. Dynamics of accumulation of rosavidin and salidroside in the rhizomes of *Rhodiola rosea*. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 1989;23(4):449–452. (In Russ.).
20. Kurkin V. A. Phenylpropanoids of medicinal plants. Distribution, classification, structural analysis, biological activity. *Chemistry of Natural Compounds*. 2003;(2):87–110. (In Russ.).
21. Kurkina A. V. Flavonoids of pharmacopoeial plants: monograph Samara: Etching, Samara State Medical University of the Ministry of Health and Social Development of Russia; 2012. 290 p. (In Russ.).
22. Kurkina A. V. Actual aspects of standardization of medicinal plant materials containing flavonoids. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2011;(5):150–153. (In Russ.). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2011-5-150-154>
23. Kurkina A. V., Ryzhov V. M. Assay of isosalipurposide in raw material and drugs from the dwarf everlast (*Helichrysum arenarium*). *Farmatsiya*. 2011;(1):12–14. (In Russ.).
24. The United States Pharmacopoeia and The National Formulary (USP 38-NF 33); The United States Pharmacopoeial Convention. Inc.: Rockville, MD, 2015.
25. Japanese Pharmacopoeia, 18th ed. The ministry of health, labour and welfare. 2021.
26. Sergunova E. V., Sorokina A. A. Study of the quality indicators of arborescent aloe (*aloe arborescens*) leaves subjected to different preservation procedures. *Farmatsiya*. 2019;7(68): 21–25. (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-07-04>
27. Olennikov D., Rokhin A., Zilfikarov I. Method for determining content of phenolic compounds in *Aloe arborescens*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2008;44:715–718.
28. Zilfikarov I. N., Olennikov D., Ibragimov T. A., Chelombit'ko V. A., Vandyshev V. V. Modern aspects of pharmacognostic and biochemical study of succulent raw material of *Aloe arborescens* and *Callisia fragrans*. Moscow Region, Schyolkovo: Publisher Marchotin P. Yu.; 2013.
29. Kurkin V. A., Ryazanova T. K., Platonov I. A., Pavlova L. V. Quantitative determination of arbutin in the leaves of *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2015;(1):95–100. (In Russ.).
30. Kurkin V. A., Ryazanova T. K., Platonov I. A., Pavlova L. V. Determination of arbutin in *Vaccinium vitis-idaea* L. leaves. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2017;51(4):34–37. (In Russ.).
31. Kurkin V. A., Ryazanova T. K., Serebryakova A. D. Development of approaches to standardization of bark of *Syringia vulgaris* L. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2021;24(7):37–44. (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-07-06>
32. Kurkin V. A., Ryazanova T. K., Shmygareva A. A., Glushchenko S. N. HPLC determination of aloenin in leaves and preparations of *Aloe arborescens* Mill. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;55(5):13–18. (In Russ.). <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2021-55-5-13-18>.
33. Kurkin V. A., Ryazanova T. K. Current aspects of standardization of *Rhodiola rosea* L. rhizomes and roots. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;55(8):40–44. (In Russ.). <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2021-55-8-40-44>
34. Kurkin V. A., Ryazanova T. K., Shmygareva A. A., Glushchenko S. N. The development of methods for determination the total of anthracene derivatives in raw materials and preparations of *Aloe arborescens* Mill. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2021;(3):153–161. (In Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021039221>
35. Kurkin V. A., Ryazanova T. K. Standardization problems of medicinal preparations from *Rhodiola rosea* L. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(3):185–194. (In Russ.). <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-3-185-194>

36. Kurkin V. A., Ryazanova T. K. Methodological approaches to standardization of rhizomes and roots of *Eleutherococcus senticosus*. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2022;56(3):34–41. (In Russ.). <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-3-34-41>
37. Ryazanova T. K., Kurkina A. V., Kurkin V. A. Development of approaches to standardization of raw materials and preparations of *Helichrysum arenarium*. *From plant biochemistry to human biochemistry. International scientific conference*. Moscow, 2022, pp. 237–241.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Татьяна Константиновна Рязанова – канд. фарм. наук, директор научно-образовательного центра «Фармация», доцент кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Россия, 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89
e-mail: t. k.ryazanova@samsmu.ru
Researcher ID: H-3398–2015
<https://orcid.org/0000-0002-4581-8610>

Владимир Александрович Куркин – д. фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Россия, 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89
e-mail: v. a.kurkin@samsmu.ru
Researcher ID: L-7663–2015
<https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Tatyana K. Ryazanova – Cand. Sci. (Pharm.), Director of the Scientific and Educational Center «Pharmacy», Associate Professor of the department of management and economics of pharmacy, Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
89 Chapaevskaya str., Samara, 443099, Russia
e-mail: t. k.ryazanova@samsmu.ru
Researcher ID: H-3398–2015
<https://orcid.org/0000-0002-4581-8610>

Vladimir A. Kurkin – Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Head of the department of pharmacognosy with botany and fundamentals of phytotherapy, Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
89 Chapaevskaya str., Samara, 443099, Russia
e-mail: v. a.kurkin@samsmu.ru
Researcher ID: L-7663–2015
<https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>