










Т.А. Голомазова  
Н.П. Антонова 
Н.Е. Семенова 
Е.П. Шефер 
С.С. Прохвятилова 
В.Л. Багирова 

Стандартизация лекарственных препаратов, содержащих сердечные гликозиды ландыша: оценка возможности отказа от биологического метода

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

✉ Голомазова Татьяна Александровна; golomazovata@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Согласно утвержденной российской нормативной документации для определения подлинности лекарственных средств, содержащих сердечные гликозиды ландыша (*Convallaria majalis*), используют общегрупповые качественные реакции и метод тонкослойной хроматографии; для количественной оценки гликозидов применяют метод спектрофотометрии и биологический метод определения. Постепенный отказ от испытаний на животных, а также тот факт, что методики, основанные на биологическом методе, не характеризуются высокой точностью и воспроизводимостью, обуславливают необходимость разработки новых, физико-химических методов контроля качества лекарственных препаратов ландыша.

ЦЕЛЬ. Замена *in vivo* методики количественного определения сердечных гликозидов в лекарственных препаратах ландыша на методику, основанную на физико-химическом методе анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Объектами исследования являлись лекарственные средства отечественного производства: «Ландыша настойка» и «Зеленина капли»; стандартный образец экстракта ландыша, стандартный образец конваллятоксина (93,0%). Оценка биологической активности выполнена согласно фармакопейной методике на озерных лягушках (*Rana ridibunda*). Содержание конваллятоксина определено методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) по методике, разработанной авторами. Проведена оценка ранговой корреляции с использованием коэффициента Спирмена между данными, полученными биологическим методом и методом ВЭЖХ, а также ВЭЖХ и спектрофотометрией.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Показана возможность использования методики ВЭЖХ для качественной и количественной оценки препаратов, содержащих сердечные гликозиды ландыша. Определено среднее содержание доминирующего и наиболее биологически активного гликозида – конваллятоксина методом ВЭЖХ в препаратах ландыша: стандартный образец экстракта ландыша 0,14578 мг/мл; ландыша настойка 0,01397 мг/мл; Зеленина капли 0,00630 мг/мл; также определена биологическая активность объектов исследования. С помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена проведен корреляционный анализ результатов исследования.







ВЫВОДЫ. Для идентификации и количественного определения в лекарственных средствах «Ландыша настойка» и «Зеленина капли» конваллятоксина предложена методика, основанная на методе ВЭЖХ, позволяющая получать воспроизводимые и точные результаты. Рекомендуемые нормы содержания конваллятоксина: «Ландыша настойка» 0,01–0,02 мг/мл; «Зеленина капли» 0,004–0,008 мг/мл.

Ключевые слова: сердечные гликозиды; стандартизация; ВЭЖХ; ландыш; настойка; Зеленина капли; биологический метод; спектрофотометрия; корреляционный анализ; озерные лягушки; *Rana ridibunda*; конваллятоксин

Для цитирования: Голомазова Т.А., Антонова Н.П., Семенова Н.Е., Шефер Е.П., Прохвятилова С.С., Багирова В.Л. Стандартизация лекарственных препаратов, содержащих сердечные гликозиды ландыша: оценка возможности отказа от биологического метода. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2026;16(1):27–36. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-1-27-36>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00061-26-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022200096-0).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Tatyana A. Golomazova ✉ 
Natalia P. Antonova 
Natalia E. Semenova 
Elena P. Shefer 
Svetlana S. Prokhvatilova 
Valeria L. Bagirova 

Standardizing Medicinal Products with *Convallaria majalis* Cardiac Glycosides: The Prospect of Phasing out Biological Method

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

✉ Tatyana A. Golomazova; golomazovata@expmed.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. The approved Russian regulations and guidelines on identification of medicinal products containing *Convallaria majalis* cardiac glycosides use group identification tests and thin-layer chromatography; spectrophotometry and bioassay are applied to quantify glycosides. Phasing out animal tests and lack of precision and reproducibility for bioassay methods necessitate the development of new physicochemical methods for the quality control of *Convallaria majalis* products.

AIM. This study aimed to replace *in vivo* assay of cardiac glycosides in *Convallaria majalis* medicinal products with physicochemical analysis.

MATERIALS AND METHODS. The study objects included Russian products: *Convallaria* tincture and Zelenin drops; *Convallaria majalis* extract reference standard, convallatoxin reference standard (93.0%). Biological activity was assessed on *Rana ridibunda* according to a compendial method. Convallatoxin content was determined using high-performance liquid chromatography (HPLC) within our method. Spearman's rank correlation was assessed between the results of bioassay and HPLC/HPLC and spectrophotometry.

RESULTS. The study proved validity of an HPLC method for identification and quantitation of medicinal products containing *Convallaria majalis* cardiac glycosides. The content of convallatoxin, the predominant and most biologically active glycoside was determined by HPLC: *Convallaria majalis* extract standard reference – 0.14578 mg/mL; *Convallaria majalis* tincture – 0.01397 mg/mL; Zelenin drops – 0.00630 mg/mL; biological activity was determined as well. Spearman's rank correlation of the findings was performed.

CONCLUSIONS. An HPLC-based method providing precise and reproducible results has been proposed for convallatoxin identification and quantitation in *Convallaria* tincture and Zelenin drops. Recommended convallatoxin content: *Convallaria* tincture 0.01–0.02 mg/mL; Zelenin drops 0.004–0.008 mg/mL.

Keywords: cardiac glycosides; standardization; high-performance liquid chromatography; HPLC; *Convallaria majalis*; lily of the valley; tincture; Zelenin drops; biological method; spectrophotometry; correlation analysis; marsh frogs; *Rana ridibunda*; convallatoxin

For citation: Golomazova T.A., Antonova N.P., Semenova N.E., Shefer E.P., Prokhvatilova S.S., Bagirova V.L. Standardizing medicinal products with *Convallaria majalis* cardiac glycosides: The prospect of phasing out biological method. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(1):27–36. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-1-27-36>

Funding. The study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00061-26-00 (R&D Registry No. 124022200096-0).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные препараты ландыша применяются в терапии сердечно-сосудистых заболеваний¹. Выделенные из данного растения сердечные гликозиды (СГ) в терапевтических дозах обладают значительной кардиотонической и биологической активностью, быстро проявляют свое действие и имеют слабовыраженные кумулятивные свойства. Так, например, основной действующий гликозид ландыша конваллятоксин по биологической активности превосходит все известные сердечные гликозиды: 1 г вещества имеет активность 63300–83000 лягушачьих единиц действия (ЛЕД) [1–6].

Для определения подлинности лекарственных растительных препаратов (ЛРП) на основе сердечных гликозидов ландыша используют качественные реакции общегруппового характера и метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) без применения стандартного образца (СО) [7, 8]. Количественное определение действующих веществ таких ЛРП до настоящего времени выполняют с использованием биологического метода², основанного на реакции живых лягушек на введение гликозидов. Постепенный отказ от испытаний на животных, а также тот факт, что методики, основанные на биологическом методе, не характеризуются высокой точностью и воспроизводимостью, обуславливают необходимость разработки новых методик, основанных на физико-химических методах анализа.

Цель работы – замена *in vivo* методики количественного определения сердечных гликозидов в лекарственных препаратах ландыша на методику, основанную на физико-химическом методе анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

В качестве объектов исследования были использованы образцы отечественных производителей: субстанция-жидкость «Ландыша настойка» – 4 серии, ЛРП «Зеленина капли» – 12 серий, «Стандартный образец экстракта ландыша» – 2 серии (ЗАО «Вифитех», ФС 42-2486-87),

стандартный образец конваллятоксина (содержание основного вещества 93,0%, Sigma-Aldrich, кат. № С9140, Германия). В качестве тест-системы использовали озерных лягушек (*Rana ridibunda*)³.

Реактивы и материалы

Реактивы: ацетонитрил (для ВЭЖХ, Concord Technology, Китай), хлороформ (для ВЭЖХ, Merck, Германия), спирт этиловый (96%, сорт «Экстра», Гатчинский спиртовой завод, Россия), свинца(II) ацетат тригидрат (для анализа, Merck, Германия), фосфорная кислота концентрированная (85,9%, ч., Honeywell, США), натрия сульфат безводный (для анализа, Merck, Германия), натрия гидроксид (для анализа, Merck, Германия), натрия бромид (для ИК-спектроскопии, Merck, Германия), левоментол (Sigma-Aldrich, кат. № PHR1116, Германия), натрия хлорид 0,9% раствор для инъекций (ООО «Гротекс», Россия); вода для инъекций (ООО «Гротекс», Россия).

Материалы: хроматографическая колонка: Luna C18(2) 250 мм × 4,6 мм × 5 мкм (Phenomenex, США), бумажный складчатый фильтр «черная лента» (ООО «МЕЛИОР XXI», Россия).

Оборудование

Жидкостный хроматограф 1260 Infinity II (Agilent Technologies, Германия); электронные весы XPE205DR (Mettler Toledo AG, Швейцария); система очистки воды Milli-Q Integral 5 (Millipore®, США), шейкер орбитальный KS 501 digital (digital IKA® Werke GmbH & Co.KG, Германия); испаритель ротационный с баней Rotavapor R-200 / R200/205 (BUCHI lab AG, Швейцария); ванна ультразвуковая ГРАД-95-3 (ООО «НТК Солтек», Россия); холодильник LKv 3912 (Liebherr Hausgeraete Lienz GmbH, Австрия).

Испытание проводили биологическим методом⁴, физико-химическими методами (спектрофотометрия (СФМ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [9]).

Биологические испытания проводили на лягушках в соответствии с фармакопейными методиками⁵. Активность СГ определяли методом биологической стандартизации и выражали в ЛЕД⁶.

¹ Государственный реестр лекарственных средств. <https://grls.rosminzdrav.ru/>

² ОФС.1.2.4.0009.15 Биологические методы оценки активности лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, содержащих сердечные гликозиды. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

³ Проведение исследования с использованием экспериментальных животных было одобрено на заседании локального этического комитета ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Протокол заседания № 6 от 16.05.2024).

⁴ ОФС.1.2.4.0009.15 Биологические методы оценки активности лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, содержащих сердечные гликозиды. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

⁵ ОФС.1.2.4.0009.15 Биологические методы оценки активности лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, содержащих сердечные гликозиды. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

ФС.3.4.0003.18 Ландыша травы настойка *Convallariae herbae tinctura*. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

⁶ 1 ЛЕД – минимальная доза стандартного препарата, которая вызывает остановку сердца в систоле у подопытных лягушек.

Животные были предоставлены ИП Осьмаком Г.Ж.⁷ В экспериментах было использовано 600 лягушек с массой тела 30–75 г. Для экспериментальных исследований лягушки поступали 4 раза, с декабря 2024 г. по март 2025 г. Животных рандомизировали по массе тела на 120 групп по 5 особей в каждой группе с разницей в массе не более 5,0 г в группе. Лягушек содержали в емкости с проточной водой в полутемном помещении при температуре около 4 °С⁸. Каждое испытание начинали с определения чувствительности очередной партии лягушек к стандартной дозе препарата. С этой целью нескольким группам лягушек, по 5 особей в каждой, вводили подкожно в бедренные лимфатические мешки дозу, близкую к 1 ЛЕД. Эта доза должна вызывать систолическую остановку сердца в течение 1 ч у большинства лягушек данной группы.

Результаты определений были обработаны с привлечением методов корреляционного анализа. Для оценки степени связи между методами был использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Качественную характеристику тесноты связи коэффициента ранговой корреляции оценивали по шкале Чеддока. Для оценки значимости коэффициента корреляции сравнивали его с критическим значением, величина которого зависит от объема выборки и уровня значимости [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки существующей стандартизации ЛРП ландыша была проанализирована нормативная документация российских производителей по показателям качества на лекарственные средства растительного происхождения «Ландыша настойка» и «Зеленина капли»⁹, данные ГРЛС, результаты экспертной работы (табл. 1, 2). Для установления подлинности СГ в препаратах «Ландыша настойка» и «Зеленина капли» используют общегрупповую качественную химическую реакцию Балье на пятичленное лактонное кольцо и применяют ТСХ. Метод ТСХ

позволяет эффективно разделять сложные смеси веществ, но для обеспечения специфичности крайне важно использовать СО конваллятоксина. Однако только 2 производителя из 6 применяют СО при проведении испытания. Для определения СГ применяют 1% раствор ванилина в хлорной или серной кислоте, который также является неспецифичным, что может привести к обнаружению других органических соединений и получению ложноположительных результатов.

Количественную оценку действующих веществ препаратов ландыша выполняют путем спектрофотометрического определения суммы сердечных гликозидов в пересчете на конваллятоксин. Данный метод имеет ряд недостатков: низкую селективность (метод не позволяет идентифицировать индивидуальные гликозиды, а определяет их сумму) и недостаточную специфичность (поглощение в спектре может быть обусловлено не только СГ, но и другими сопутствующими веществами), недостаточную точность результатов исследования (за счет использования в расчетах удельного показателя поглощения).

Для оценки также используют метод биологической оценки активности СГ ландыша с использованием лягушек. Необходимо отметить, что начиная с 2011 г. отдельные производители начали исключать биологический метод из процессов контроля качества ЛРП. Это может быть связано со сложностями в обеспечении тест-системой – животными из дикой природы, часть из которых находится под охраной (например, занесены в Красную книгу Москвы¹⁰), а также с трудоемкостью выполнения экспериментов на живых особях, особенно при рутинном анализе.

В связи с вышеизложенным, а также постепенным сокращением использования животных в экспериментах в соответствии с внедряемой в практику концепцией 3R¹¹, необходимо изменение подходов к стандартизации ЛРП, содержащих

⁷ <https://companies.rbc.ru/persons/ogrnip/317774600170853-osmak-german-zhakovich/>

⁸ Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Федеральный закон Российской Федерации от 14.05.1993 № 4979-1 «О ветеринарии».

ГОСТ 33215-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур.

⁹ В работе были использованы данные Государственного реестра лекарственных средств, а также материалы, полученные в рамках выполнения уставной деятельности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

¹⁰ Постановление Правительства Москвы от 02.07.2019 № 745-ПП «О внесении изменений в постановление Правительства Москвы от 19 февраля 2013 г. № 79-ПП» (вместе с «Порядком ведения Красной книги города Москвы», «Перечнем видов животных, растений и грибов, исключенных из Красной книги города Москвы», «Перечнем видов животных, растений и грибов, не занесенных в Красную книгу города Москвы, но нуждающихся на территории города Москвы в постоянном контроле и наблюдении», «Списком редких, находящихся под угрозой исчезновения и уязвимых в условиях города Москвы видов животных и растений, занесенных в Красную книгу города Москвы»).

¹¹ Директива № 2010/63/ЕС Европейского парламента и Совета Европейского союза «О защите животных, используемых для научных целей».

Таблица 1. Показатели качества препарата «Ландыша настойка»

Table 1. Quality parameters of *Convallaria majalis* tincture

Показатели качества <i>Quality parameters</i>		Производители <i>Manufacturer</i>					
		1	2	3	4	5	6
Описание <i>Description</i>		Прозрачная жидкость <i>Transparent liquid</i>					
		От желто-коричневого до зеленовато-коричневого цвета <i>Yellow-brown to greenish-brown color</i>		Зеленовато-коричневого цвета <i>Greenish-brown color</i>			
		Со слабым характерным запахом <i>Faint characteristic odor</i>			Слабого своеобразного запаха <i>Faint peculiar odor</i>		
Подлинность <i>Authenticity</i>	Качественные реакции <i>Qualitative reactions</i>	Качественная реакция с натрия пикратом. Окрашивание оранжево-желтого цвета (сердечные гликозиды) <i>Qualitative reaction with sodium picrate. Orange-yellow staining (cardiac glycosides)</i>					
	Тонкослойная хроматография (сердечные гликозиды) <i>Thin-layer chromatography for cardiac glycosides</i>	Зона адсорбции от сине-зеленого до синего цвета, соответствующая по расположению зоне адсорбции конваллятоксина на хроматограмме раствора сравнения <i>The adsorption zone blue-green to blue, location corresponding to the adsorption zone of convallatoxin on the chromatogram of the reference solution</i>		Зона с R _f около 0,52 <i>Zone with R_f around 0.52</i>		Пятно того же цвета на хроматограмме раствора стандартного образца конваллятоксина <i>A spot of the same color on the chromatogram of convallatoxin reference standard</i>	
	Допускается обнаружение пятен других гликозидов <i>Spots of other glycosides allowable</i>						
Спирт этиловый Метод дистилляции <i>Ethyl alcohol Distillation method</i>		От 64,0 до 70,0% <i>64.0 to 70.0%</i>		Не менее 64% <i>Not less than 64%</i>			
Сухой остаток <i>Dry residue</i>		Не менее 2,0% <i>Not less than 2.0%</i>		Не менее 1,7% <i>Not less than 1.7%</i>			
Тяжелые металлы <i>Heavy metals</i>		Не более 0,001% <i>Not more than 0.001%</i>					
Микробиологическая чистота <i>Microbiological purity</i>		Категория ЗБ <i>Category 3B</i>					
Количественное определение <i>Assay</i>	Биологический метод <i>Biological method</i>	Травяные лягушки <i>Grass frogs</i>				Травяные и водные лягушки <i>Grass and water frogs</i>	
		10,4–13,3 ЛЕД/мл <i>10.4 to 13.3 frog unit/mL</i>		Отсутствует <i>None</i>		10,4–13,3 ЛЕД/мл <i>10.4 to 13.3 frog unit/mL</i>	
		Отсутствует <i>None</i>				2,0–2,5 КЕД/мл <i>2.0 to 2.5 kU/mL</i>	
	Спектрофотометрический метод по удельному показателю <i>Spectrophotometric assay based on specific absorptivity</i>	Сумма сердечных гликозидов в пересчете на конваллятоксин 0,104–0,133 мг/мл <i>Total cardiac glycosides expressed as convallatoxin 0.104 to 0.133 mg/mL</i>					

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Таблица 2. Показатели качества препарата «Зеленина капли»

Table 2. Quality parameters of Zelenin drops

Показатели качества <i>Quality parameters</i>		Производители <i>Manufacture</i>						
		1	2	3	4	5	6	7
Описание <i>Description</i>		Прозрачная жидкость <i>A transparent liquid</i>						
		От зеленовато-коричневого до желтовато-коричневого цвета <i>Greenish-brown to yellowish-brown</i>	Зеленовато-бурого или желтовато-бурого цвета <i>Greenish-brown or yellowish-brown</i>	Зеленоватого или желтовато-коричневого цвета <i>Greenish or yellowish-brown</i>	От зеленовато-коричневого до желтовато-коричневого цвета <i>Greenish-brown to yellowish-brown</i>	Зеленовато-коричневого или желтовато-коричневого цвета <i>Greenish-brown or yellowish-brown</i>		
		Характерного запаха <i>With a characteristic odor</i>						
Подлинность <i>Authenticity</i> Качественные реакции <i>Quality Reactions</i>		Сердечные гликозиды, атропин, левоментол, сложные эфиры валереновой кислоты <i>Cardiac glycosides, atropine, levomenthol, valerenic acid esters</i>						
Плотность* <i>Density*</i>		Метод 1, 4 <i>Method 1, 4</i>	Метод 1 <i>Method 1</i>					
		От 0,900 до 0,924 <i>0.900 to 0.924</i>						
Количественное определение <i>Assay</i>	Тяжелые металлы <i>Heavy metals</i>	Не более 0,001% <i>Not more than 0.001%</i>		–			Не более 0,001% <i>Not more than 0.001%</i>	
	Микробиологическая чистота <i>Microbiological purity</i>	Категория 3Б <i>Category 3B</i>						
	Спектрофотометрический метод <i>Spectrophotometric assay</i>	Содержание сердечных гликозидов в пересчете на конваллятоксин 0,040–0,060 мг/мл <i>Total cardiac glycosides expressed as convallatoxin 0.040–0.060 mg/mL</i>						
	Биологический метод <i>Biological method</i>	4,1–5,3 ЛЕД/мл <i>4.1 to 5.3 frog unit/mL</i>						
	Спектрофотометрия <i>Spectrophotometric assay</i>	Содержание алкалоидов красавки в пересчете на атропин основание 0,048–0,068 мг/мл <i>Belladonna alkaloid, expressed as atropine base, ranges 0.048–0.068 mg/mL</i>						
	Спектрофотометрия / газожидкостная хроматография <i>Spectrophotometric assay/GLC</i>	7,2–8,8 г/мл ментола <i>7.2–8.8 g/mL menthol</i>						

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

Примечание. «–» – не указано.

* – определена согласно ОФС.1.2.1.0014 Плотность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

Note. –, not stated.

СГ ландыша, по показателям «Идентификация» и «Количественное определение», а также отказ от *in vivo* метода определения биологической активности в пользу современного физико-химического метода.

Для выполнения биологических исследований необходимо наличие стандартного образ-

ца, в качестве которого был выбран экстракт ландыша. Результаты определения конваллятоксина в таком образце приведены в таблице 3. Основная часть исследования включала идентификацию и количественное определение конваллятоксина (доминирующего и наиболее биологически активного СГ, маркера, отвечающего за фармакологическое действие

Таблица 3. Количественное определение конваллятоксина в лекарственных растительных препаратах на основе сердечных гликозидов ландыша (n=3)**Table 3.** Convallatoxin assay in herbal medicinal products based on *Covallaria majalis* cardiac glycosides (n=3)

Наименование препарата, серия <i>Product name, batch</i>	Метод определения <i>Test method</i>	
	Высокоэффективная жидкостная хроматография (содержание конваллятоксина, мг/мл (RSD, %)) <i>High-performance liquid chromatography (convallatoxin, mg/mL (RSD, %))</i>	Биологический метод (биологическая активность, ЛЕД/мл) <i>Biological (biological activity, frog unit/mL)</i>
Экстракт ландыша – стандартный образец, серия 1 <i>Convallaria majalis Extract – Reference Standard, Series 1</i>	0,14408 (0,25%)	Испытание не проводили <i>Not performed</i>
Экстракт ландыша – стандартный образец, серия 2 <i>Convallaria majalis Extract – Reference Standard, Series 2</i>	0,14736 (0,31%)	53,3
Ландыша настойка, субстанция-жидкость, ОП010524 <i>Convallaria majalis tincture, liquid, 010524</i>	0,01604 (0,64%)	7,2
Ландыша настойка, субстанция-жидкость, ОП020524 <i>Convallaria majalis tincture, liquid, 020524</i>	0,01083 (2,34%)	Биологическая активность не обнаружена <i>Biological activity not detected</i>
Ландыша настойка, субстанция-жидкость, ОП030524 <i>Convallaria majalis tincture, liquid, 030524</i>	0,01095 (1,47%)	Биологическая активность не обнаружена <i>Biological activity not detected</i>
Ландыша настойка, субстанция-жидкость, 050423 <i>Convallaria majalis tincture, liquid, 050423</i>	0,01621 (0,64%)	Испытание не проводили <i>Not performed</i>
Зеленина капли, 030823 <i>Zelenin drops, 030823</i>	0,00365 (3,01%)	Испытание не проводили <i>Not performed</i>
Зеленина капли, 050623 <i>Zelenin drops, 050623</i>	0,00393 (0,32%)	Испытание не проводили <i>Not performed</i>
Зеленина капли, 030422 <i>Zelenin drops, 030422</i>	0,00509 (0,19%)	Испытание не проводили <i>Not performed</i>
Зеленина капли, 050623 <i>Zelenin drops, 050623</i>	0,00397 (0,32%)	Биологическая активность не обнаружена <i>Biological activity not detected</i>
Зеленина капли, 010524 <i>Zelenin drops, 010524</i>	0,00662 (2,96%)	Испытание не проводили <i>Not performed</i>
Зеленина капли, 010423 <i>Zelenin drops, 010423</i>	0,00554 (2,02%)	4,3
Зеленина капли, 060624 <i>Zelenin drops, 060624</i>	0,00368 (3,05%)	Испытание не проводили <i>Not performed</i>
Зеленина капли, 30823 <i>Zelenin drops, 30823</i>	0,00657 (0,44%)	Биологическая активность не обнаружена <i>Biological activity not detected</i>
Зеленина капли, 10323 <i>Zelenin drops, 10323</i>	0,00695 (0,31%)	Испытание не проводили <i>Not performed</i>
Зеленина капли, 20823 <i>Zelenin drops, 20823</i>	0,01166 (0,46%)	4,1
Зеленина капли, 010622 <i>Zelenin drops, 010622</i>	0,00652 (2,08%)	Биологическая активность не обнаружена <i>Biological activity not detected</i>
Зеленина капли, 10124 <i>Zelenin drops, 10124</i>	0,00491 (3,39%)	Испытание не проводили <i>Not performed</i>

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

и характеризующего эффективность препаратов ландыша с помощью разработанной ранее методики ВЭЖХ [9] (табл. 3).

Полученные результаты свидетельствуют о высокой вариабельности и низкой чувствительности биологического метода определения: в пяти образцах биологическая активность не была установлена, в то время как методом ВЭЖХ был обнаружен конваллятоксин в концентрации от 0,004 (RSD=0,32%) до 0,011 мг/мл (RSD=2%). Была проведена статистическая проверка наличия корреляции между результатами определения содержания конваллятоксина методом ВЭЖХ и данных по биологической активности (в ЛЕД) в препаратах ландыша (табл. 4). Полученный коэффициент ранговой корреляции Спирмена (0,62) указывает на наличие средней и заметной связи между методами, однако, поскольку данный коэффициент ниже критического значения 0,68 ($n=9$; $p=0,05$)¹², статистическая значимость этой корреляции не достигается [10]. Неоднозначность корреляции между биологическими и физико-химическими методами может быть связана с тем, что биологический метод определения не может быть валидирован, отличается низкой чувствительностью, большой вариабельностью получаемых результатов [11, 12].

Поскольку для количественного определения суммы СГ используют также спектрофотометрический метод, был проведен корреляционный анализ между результатами,

полученными физико-химическими методами, включенными в ряд нормативных документов: ВЭЖХ (результаты получены в текущей работе) и спектрофотометрии (результаты опубликованы ранее в работе [9]) (табл. 5). Коэффициент ранговой корреляции Спирмена составил 0,89, что указывает на наличие высокой степени корреляции между рассматриваемыми методами. Значение вышеуказанного коэффициента превышает критическое значение 0,78 ($n=7$; $p=0,05$), что свидетельствует о статистической значимости выявленной корреляции и возможности использования разработанной ВЭЖХ-методики в качестве адекватного метода количественного определения сердечных гликозидов в препаратах ландыша по маркеру, отвечающему за фармакологическое действие препаратов.

На основании данных, полученных в настоящем исследовании и в работе [9], были рассчитаны средние значения содержания конваллятоксина, определенные методом ВЭЖХ, в препаратах ландыша: стандартный образец экстракта ландыша 0,14578 мг/мл (0,14408–0,14736 мг/мл); ландыша настойка, субстанция-жидкость: 0,01397 мг/мл (0,01083–0,01824 мг/мл); Зеленина капли 0,00630 мг/мл (0,00368–0,01280 мг/мл).

Накопленная информация позволяет рекомендовать нормы содержания конваллятоксина в исследуемых объектах: ландыша настойка, субстанция-жидкость 0,01–0,02 мг/мл; Зеленина капли – 0,004–0,008 мг/мл. Рекомендуемые

Таблица 4. Таблица ранговой корреляции Спирмена данных по содержанию сердечных гликозидов, полученных разными методами

Table 4. Spearman's rank correlation between cardiac glycosides contents obtained by various methods

№ образца Sample No.	Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Содержание конваллятоксина, мг/мл Convallatoxin content (high-performance liquid chromatography), mg/mL	Ранг А Rank A	Биологический метод. Биологическая активность, ЛЕД/мл Biological activity, frog unit/mL	Ранг В Rank B	d (разница рангов) Rank difference	d ² (квадрат разностей рангов) Squared rank difference
1	0,14736	8	53,3	9	-1	1
2	0,01604	9	7,2	8	-1	1
3	0,01083	5	0	3	2	4
4	0,01095	6	0	3	3	9
5	0,00397	1	0	3	-2	4
6	0,00554	2	4,3	7	-5	25
7	0,00657	4	0	3	1	1
8	0,01166	7	4,1	6	1	1
9	0,00652	3	0	3	0	0
Σ Total		45		45	0	46

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

¹² n – количество экспериментов, p – доверительная вероятность.

Таблица 5. Таблица ранговой корреляции Спирмена данных по содержанию конваллятоксина, полученных методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и спектрофотометрии

Table 5. Spearman's rank correlation between convallatoxin contents obtained by HPLC and spectrophotometry

№ образца Sample No.	Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Содержание конваллятоксина, мг/мл <i>Convallatoxin content (high-performance liquid chromatography), mg/mL</i>	Ранг А Rank A	Метод спектрофотометрии. Содержание суммы СГ в пересчете на конваллятоксин, мг/мл <i>Spectrophotometry Convallatoxin content, mg/mL</i>	Ранг В Rank B	d (разница рангов) Rank difference	d ² (квадрат разностей рангов) Squared rank difference
1	0,00413	1	0,03256	1	0	0
2	0,00490	2	0,03506	2	0	0
3	0,01123	5	0,06868	6	-1	1
4	0,01028	4	0,04063	5	-1	1
5	0,01138	6	0,04019	4	2	4
6	0,01280	7	0,06910	7	0	0
7	0,00593	3	0,03994	3	0	0
Σ Total		28		28	0	6

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

нормы были предложены на основании данных, полученных на образцах препаратов, которые были изготовлены по утвержденным промышленным регламентам и находятся на фармацевтическом рынке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доказана высокая степень корреляции данных, полученных методами ВЭЖХ и спектрофотометрии для качественной и количественной оценки препаратов, содержащих сердечные гликозиды ландыша. Статистически достоверную корреляцию между методом ВЭЖХ и биологическим

методом установить не удалось из-за высокой вариабельности результатов биологического метода.

В рамках реализации концепции 3R предложено включить метод ВЭЖХ для идентификации и количественного определения конваллятоксина в фармакопейную статью «Ландыша настойка» и в нормативную документацию на лекарственный препарат «Зеленина капли» с рекомендуемыми нормами содержания конваллятоксина: 0,01–0,02 и 0,004–0,008 мг/мл соответственно взамен биологического метода с использованием лягушек.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Stansbury J, Saunders P, Winston D, Zampieron ER. The use of *Convallaria* and *Crataegus* in the treatment of cardiac dysfunction. *J Restor Med*. 2012;1(1):107–11. <https://doi.org/10.14200/jrm.2012.1.1012>
- Ivanović S, Simić K, Lekić S, et al. Plant metabolomics as a tool for detecting adulterants in edible plant: A case study of *Allium ursinum*. *Metabolites*. 2022;12(9):849. <https://doi.org/10.3390/metabo12090849>
- Быков ЕВ, Вихарева ЕВ. Фармакопейные методы анализа сердечных гликозидов в растительном сырье и лекарственных препаратах (обзор). *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2023;26(7):5–11. Вukov EV, Vikhareva EV. Pharmacopoeial methods for the analysis of cardiac glycosides in plant raw materials and medicines (review). *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2023;26(7):5–11 (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/25877313-2023-07-01>
- Орынбекова СО, Келеке АС, Сакипова ЗБ и др. Сравнительная оценка методик идентификации сердечных гликозидов в лекарственном растительном сырье. *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2019;(2):396–9. Orynbeкова SO, Keleke AS, Saki-pova ZB, et al. Comparative evaluation of the identification methods of cardiac glycosides in herbal drugs. *Vestnik KazNMU*. 2019;(2):396–9 (In Russ.).
- Гуревич МА, Гаврилин АА. Сердечные гликозиды в современной клинической практике. *Альманах клинической медицины*. 2014;(35):101–5. Gurevich MA, Gavrilin AA. Cardiac glycosides in up to-date clinical practice. *Almanac of Clinical Medicine*. 2014;(35):101–5 (In Russ.). <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2014-35-101-105>
- Дукельская НК, Гармашова ИВ, Давыдова МВ. Сравнительный анализ препаратов сердечных гликозидов, используемых в современной фармакотерапии. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2020;39(S3–4):82–5. Dukelskaya NK, Garmashova IV, Davydova MV. Comparative analysis of the products of cardiac glycosides used in modern pharmacotherapy. *Russian Military Medical Academy Report*. 2020;39(S3–4):82–5 (In Russ.). EDN: [SNCYHH](https://doi.org/10.18786/2072-0505-2014-35-101-105)
- Доронина ДА. Перспективы изучения биологически активных веществ ландыша майского *Convallaria majalis* L.

- В кн.: *От биохимии растений к биохимии человека: Международная научная конференция*. М.; 2022. С. 281–8. Doronina DA. Prospects for the study of biologically active substances of lily of the valley *Convallaria majalis* L. In: *From plant biochemistry to human biochemistry: International scientific conference*. Moscow; 2022. P. 281–8 (In Russ.). https://doi.org/10.52101/9785870191041_281
8. Witkowska A, Gryn-Rynko A, Syrkiewicz P, et al. Characterizations of white mulberry, sea-buckthorn, garlic, lily of the valley, motherwort, and hawthorn as potential candidates for managing cardiovascular disease. *In vitro and ex vivo* animal studies. *Nutrients*. 2024;16(9):1313. <https://doi.org/10.3390/nu16091313>
 9. Голомазова ТА, Антонова НП, Семенова НЕ и др. Разработка и валидация методики определения конваллятоксина в лекарственных препаратах, содержащих сердечные гликозиды ландыша. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024;14(5):580–9. Golomazova TA, Antonova NP, Semenova NE, et al. Development and validation of an analytical procedure for determining convallatoxin in medicinal products containing cardiac glycosides of lily of the valley. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(5):580–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-5-580-589>
 10. Баврина АП, Борисов ИБ. Современные правила применения корреляционного анализа. *Медицинский альманах*. 2021;(3):70–9. Bavrina AP, Borisov IB. Modern rules for applying correlation analysis. *Medical Almanac*. 2021;(3):70–9 (In Russ.). EDN: [TPSSIX](https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-5-580-589)
 11. Гайдерова ЛА, Алпатова НА, Головинская ОВ и др. Реализация концепции 3Rs при контроле качества биологических препаратов: современное состояние и перспективы (обзор). *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2025;13(2):229–39. Gaiderova LA, Alpatova NA, Golovinskaya OV, et al. Implementation of the 3Rs Concept in quality control of biologicals: Status and prospects (review). *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2025;13(2):229–39 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2025-13-2-229-240>
 12. Akkermans A, Chapsal JM, Coccia EM, et al. Animal testing for vaccines. Implementing replacement, reduction and refinement: Challenges and priorities. *Biologicals*. 2020;68:92–107. <https://doi.org/10.1016/j.biologics.2020.07.010>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Т.А. Голомазова — выполнение экспериментальной части исследований, написание исходного текста рукописи; Н.П. Антонова — консультация по вопросам проведения отдельных этапов экспериментальных работ, редактирование и переработка текста рукописи, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; Н.Е. Семенова — обобщение результатов исследования и их интерпретация; Е.П. Шефер — критический пересмотр содержания текста рукописи; С.С. Прохвятилова — сбор, анализ и обобщение данных литературы; В.Л. Багирова — планирование эксперимента и постановка задач исследования, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Tatyana A. Golomazova performed the experiments and drafted the manuscript. Natalia P. Antonova advised the researchers at certain experimental stages, edited and restructured the manuscript and approved the final version for publication. Natalia E. Semenova generalized and interpreted the study results. Elena P. Shefer critically revised the manuscript. Svetlana S. Prokhvatilova collected, analyzed and generalized literature data. Valeria L. Bagirova planned the experiment, formulated study objectives and approved the final version for publication.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Голомазова Татьяна Александровна / Tatyana A. Golomazova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9917-9367>

Антонова Наталия Петровна, канд. биол. наук / **Natalia P. Antonova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7818-5303>

Семенова Наталья Евгеньевна / Natalia E. Semenova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6787-0647>

Шефер Елена Павловна, канд. фарм. наук / **Elena P. Shefer**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8389-4799>

Прохвятилова Светлана Степановна, канд. фарм. наук / **Svetlana S. Prokhvatilova**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3278-1994>

Багирова Валерия Леонидовна, д-р фарм. наук, профессор / **Valeria L. Bagirova**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0379-6158>

Статья поступила 20.10.2025

После доработки 18.12.2025

Принята к печати 11.02.2026

Received October 20, 2025

Revised December 18, 2025

Accepted February 11, 2026