

ВЕДОМОСТИ  
НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ  
СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

ISSN 1991-2919 (Print)  
ISSN 2619-1172 (Online)

# Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств



## ГЛАВНАЯ ТЕМА

Контроль качества лекарственных средств  
растительного происхождения

## QR-гид: документы в мгновенном доступе

### Рекомендации органов Евразийской экономической комиссии, регулирующие обращение лекарственных средств растительного происхождения



Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 10.05.2018 № 6 «О Руководстве по качеству лекарственных растительных препаратов».



Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии от 23.04.2019 № 13 «О Правилах составления группировочных наименований лекарственных препаратов» (Раздел VII. Составление группировочных наименований лекарственных растительных препаратов).



Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 12.02.2019 № 6 «О Руководстве по выбору тестов и критериев приемлемости для составления спецификаций на лекарственное растительное сырье, растительные фармацевтические субстанции (препараты на основе лекарственного растительного сырья) и лекарственные растительные препараты».



Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 06.08.2019 № 24 «О Руководстве по контролю рисков микробной контаминации лекарственного растительного сырья, растительных фармацевтических субстанций (препаратов на основе лекарственного растительного сырья) и лекарственных растительных препаратов».



Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 25.05.2021 № 8 «О Руководстве по оценке качества лекарственных препаратов на основе комбинаций лекарственного растительного сырья и (или) растительных фармацевтических субстанций (препаратов на основе лекарственного растительного сырья)».



Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.05.2022 № 20 «О Руководстве по указанию наименования и содержания лекарственного растительного сырья, растительных фармацевтических субстанций (препаратов на основе лекарственного растительного сырья) в общей характеристике лекарственного препарата для медицинского применения, инструкции по медицинскому применению (листка-вкладыше) и маркировке лекарственного растительного препарата» (начало действия – 19.11.2022).



Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 16.04.2019 № 59 «О классификаторе лекарственного растительного сырья».



Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 07.12.2021 № 169 «Об утверждении требований к исследованию стабильности растительных фармацевтических субстанций (препаратов на основе лекарственного растительного сырья) и лекарственных растительных препаратов» (начало действия – 10.12.2022).

### Нормативные правовые акты, регулирующие экспертизу и регистрацию лекарственных средств



Постановление Правительства Российской Федерации от 05.04.2022 № 593 «Об особенностях обращения лекарственных средств для медицинского применения в случае дефектуры или риска возникновения дефектуры лекарственных препаратов в связи с введением в отношении Российской Федерации ограничительных мер экономического характера».



Постановление Правительства Российской Федерации от 23.03.2022 № 440 «Об утверждении особенностей внесения изменений в документы, содержащиеся в регистрационном досье на зарегистрированный лекарственный препарат для медицинского применения, в случае дефектуры или риска возникновения дефектуры лекарственных препаратов в связи с введением в отношении Российской Федерации ограничительных мер экономического характера».

Расширенный перечень нормативных документов в области регулирования экспертизы и регистрации лекарственных средств представлен на сайте ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России <https://www.regmed.ru/activity/normativnye-pravovye-akty-ls/>





## Уважаемые коллеги!

Номенклатура лекарственных растительных препаратов ежегодно расширяется. Это обусловлено как проведением многочисленных исследований и введением в фармацевтическую практику новых видов лекарственного растительного сырья, так и рациональным использованием ресурсов фармакопейных видов лекарственных растений. Эффективность и безопасность использования получаемых препаратов во многом зависят от их качества. В контроле ка-

чества лекарственных растительных средств и фармацевтических субстанций растительного происхождения можно выделить на сегодняшний день несколько ключевых вопросов, которые стоят перед специалистами в этой области: какой метод выбрать для определения, по каким биологически активным соединениям проводить стандартизацию и какие показатели безопасности важно оценивать в первую очередь.

Современные возможности проведения оценки доброкачественности лекарственных растительных препаратов обеспечиваются применением широкого спектра физико-химических методов, среди которых не теряет актуальности спектрофотометрия. В фармакопейном анализе все чаще используется высокоэффективная тонкослойная хроматография. Лекарственное растительное сырье и фармацевтические субстанции растительного происхождения стандартизуют, как правило, по нескольким группам биологически активных веществ, однако среди прочих, обычно определяют соединения флавоноидной природы. И наконец, одним из ключевых показателей безопасности растительных препаратов является не просто содержание отдельных токсичных элементов, а определение в какой форме они находятся в растительном сырье и препарате. Таковы основные аспекты главной темы этого номера «Контроль качества лекарственных средств растительного происхождения».

*Искренне ваша,  
главный редактор*

**Косенко  
Валентина Владимировна**

## Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств

Рецензируемый научно-практический журнал

### Учредитель и издатель:

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России)

### Главный редактор:

Косенко Валентина Владимировна,  
канд. фарм. наук

### Шеф-редактор:

Федотова Ольга Федоровна  
тел.: +7 (495) 121-06-00 (доб. 63-05)  
[Fedotovaof@expmed.ru](mailto:Fedotovaof@expmed.ru)

### Ответственный редактор:

Гойкалова Ольга Юрьевна, канд. биол. наук, доц.

### Ответственный редактор тематического выпуска:

Гравель Ирина Валерьевна, д-р фарм. наук, проф.

### Научные редакторы:

Молчан Нина Валерьевна, канд. фарм. наук  
Хрущева Мария Леонидовна, канд. хим. наук

### Редактор:

Калиничев Сергей Анатольевич, канд. фарм. наук

### Редактор перевода:

Балтина Любовь Александровна

### Адрес учредителя и редакции:

127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2  
тел.: +7 (499) 190-18-18  
(доб. 63-41, 63-65)  
[vedomosti@expmed.ru](mailto:vedomosti@expmed.ru)

[www.vedomostincesmp.ru](http://www.vedomostincesmp.ru)

Журнал основан в 2005 году.

Выходит ежеквартально (четыре выпуска в год).

Журнал открытого доступа, индексируется в российских и международных реферативных и индексных базах данных:

Chemical Abstracts (CAS), Embase, Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), Russian Science Citation Index (RSCI), его архив включен в базы крупнейших агрегаторов научных ресурсов и библиотек WorldCat, DOAJ, Российская государственная библиотека, Академия Google (Google Scholar), КиберЛенинка, BASE, Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, ЭБС ЛАНЬ, Соционет, Research4life, Lens.org, Openaire.eu, Ulrichsweb, Mendeley, Unpaywall, OpenCitations и др.

Двухлетний импакт-фактор РИНЦ – 0,627.

Входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук.

В журнале освещаются передовые достижения по вопросам стандартизации и оценки качества лекарственных препаратов различных групп, разработки и совершенствования методик фармацевтического анализа, методологии экспертизы лекарственных средств, в том числе по установлению их взаимозаменяемости, обсуждаются новые высокотехнологические методы доклинических и клинических исследований лекарственных средств, рассматриваются актуальные проблемы фармакологии, клинической медицины, вопросы рационального применения лекарственных препаратов на основе принципов персонализированной терапии.

К публикации в журнале принимаются обзорные и оригинальные статьи, краткие сообщения, методические материалы, тематика которых соответствует медицинским, фармацевтическим и химическим отраслям науки и следующим научным специальностям:

- Промышленная фармация и технология получения лекарств; Фармацевтическая химия, фармакогнозия; Организация фармацевтического дела;
- Фармакология, клиническая фармакология;
- Аналитическая химия.

Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописи не взимается  
Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution International 4.0 CC-BY

|                     |                                                                                  |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Подписано в печать: | 22.06.2023                                                                       |
| Дата выхода в свет  | 28.06.2023                                                                       |
| Подписной индекс    | в каталоге «Пресса России» – 57942,<br>в каталоге агентства «Урал-Пресс» – 57942 |

© Оформление, составление. ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2023



## Редакционная коллегия

### Главный редактор

**Косенко Валентина Владимировна**, канд. фарм. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

### Заместители главного редактора

**Петров Владимир Иванович**, академик РАН, д-р мед. наук, проф., ВолгГМУ (Волгоград, Россия)

**Родин Игорь Александрович**, д-р хим. наук, проф., МГУ им. М.В. Ломоносова, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

### Ответственный секретарь

**Хрущева Мария Леонидовна**, канд. хим. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

### Члены редакционной коллегии

**Астапенко Елена Михайловна**, канд. техн. наук, Минздрав России (Москва, Россия)

**Бобизода Гуломкодир Мукамал**, д-р биол. наук, д-р фарм. наук, проф., ТГПУ им. С. Айни (Душанбе, Республика Таджикистан)

**Бунятян Наталья Дмитриевна**, д-р фарм. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

**Гейн Владимир Леонидович**, д-р хим. наук, проф., ПГФА (Пермь, Россия)

**Глаголев Сергей Владимирович**, Минздрав России (Москва, Россия)

**Горячев Дмитрий Владимирович**, д-р мед. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

**Гравель Ирина Валерьевна**, д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия)

**Дмитриев Виктор Александрович**, канд. мед. наук, Ассоциация российских фармацевтических производителей (Москва, Россия)

**Дурнев Андрей Дмитриевич**, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., НИИ фармакологии им. В.В. Закусова (Москва, Россия)

**Егорова Светлана Николаевна**, д-р фарм. наук, проф., Казанский ГМУ (Казань, Россия)

**Звартау Эдвин Эдуардович**, д-р мед. наук, проф., Первый СПбГМУ им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия)

**Кайтель Сюзан**, Ph.D. (Бонн, Германия)

**Ковалева Елена Леонардовна**, д-р фарм. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

**Кузьмина Наталия Евгеньевна**, д-р хим. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

**Макарова Марина Николаевна**, д-р мед. наук, НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (Ленинградская область, Россия)

**Ордабаева Сауле Кутымовна**, д-р фарм. наук, проф., Южно-Казахстанская медицинская академия (Шымкент, Республика Казахстан)

**Прокофьев Алексей Борисович**, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

**Ремезова Ирина Петровна**, д-р фарм. наук, проф., ПМФИ (Пятигорск, Россия)

**Рождественский Дмитрий Анатольевич**, канд. мед. наук, Департамент технического регулирования и аккредитации ЕЭК (Москва, Россия)

**Самылина Ирина Александровна**, член-корр. РАН, д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия)

**Сычев Дмитрий Алексеевич**, акад. РАН, д-р мед. наук, проф., РМАНПО (Москва, Россия)

**Сюбаев Рашид Даутович**, д-р мед. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

**Темердашев Азамат Зауалевич**, д-р хим. наук, КубГУ (Краснодар, Россия)

**Тулегенова Ардак Уринбасаровна**, д-р фарм. наук, проф., Фармакопейный комитет ЕАЭС (Москва, Россия)

**Хохлов Александр Леонидович**, акад. РАН, д-р мед. наук, проф., ЯГМУ (Ярославль, Россия)

**Шимановский Николай Львович**, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Москва, Россия)

**Ягудина Роза Исмаиловна**, д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия)

**Якушева Елена Николаевна**, д-р мед. наук, проф., РязГМУ (Рязань, Россия)

|             |                                                                                                                                                                            |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Регистрация | Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство ПИ № ФС77-82931 от 14 марта 2022 г. |
| Исполнитель | ООО «НЭИКОН ИСП»: 115114, Москва, ул. Летниковская, д. 4, стр. 5                                                                                                           |
| Типография  | ООО «Издательство «Триада»: 170034, Тверь, пр. Чайковского, д. 9, оф. 514                                                                                                  |
| Тираж       | 150 экз. Цена свободная                                                                                                                                                    |

## Regulatory Research and Medicine Evaluation

Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya  
Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv

A peer-reviewed research and practice journal

### Founder and publisher:

Federal State Budgetary Institution "Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products" of the Ministry of Health of the Russian Federation

### Editor-in-Chief:

**Valentina V. Kosenko**,  
Cand. Sci. (Pharm.)

### Managing Editor:

**Olga F. Fedotova**  
tel.: +7 (495) 121-06-00 (ext. 63-05)  
[Fedotovaof@expmed.ru](mailto:Fedotovaof@expmed.ru)

### Executive Editor:

**Olga Yu. Goykalova**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.

### Guest Editor for the Special Issue:

**Irina V. Gravel**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof.

### Science Editor:

**Nina V. Molchan**, Cand. Sci. (Pharm.)  
**Maria L. Khrushcheva**, Cand. Sci. (Chem.)

### Editor:

**Sergey A. Kalinichev**, Cand. Sci. (Pharm.)

### Translation Editor:

**Liubov A. Baltina**

### Postal address of the founder and editorial office:

8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051  
tel.: +7 (499) 190-18-18  
(ext. 63-41, 63-65)  
[vedomosti@expmed.ru](mailto:vedomosti@expmed.ru)

[www.vedomostincesmp.ru](http://www.vedomostincesmp.ru)

Founded in 2005

Published quarterly (four issues per year)

This is an open access journal indexed in Russian and international abstracting and indexing databases: Chemical Abstracts (CAS), Embase, Russian Index of Science Citation (RISC) and Russian Science Citation Index (RSCI), with the archive included in major aggregator databases, such as WorldCat, DOAJ, Russian State Library, Google Scholar, CyberLeninka, BASE, Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, Lan' ELS, Socionet, Research4life, Lens.org, Openaire.eu, Ulrichsweb, Mendeley, Unpaywall, OpenCitations, etc.

The journal's two-year impact factor is 0.627.

The journal is included in the official List of peer-reviewed scientific journals which guarantee acknowledgement of the published research by the State Commission that grants Candidate of Science and Doctor of Science degrees.

The journal covers advances in the areas of standardisation and quality control of various groups of medicines, development and improvement of analytical test procedures, approaches to evaluation of medicinal products, including assessment of medicine interchangeability, discusses new sophisticated methods of preclinical and clinical research, relevant issues of pharmacology, clinical medicine, rational use of medicines based on personalised medicine principles.

The journal publishes reviews and original articles, brief communications, guidance materials related to medical and pharmaceutical sciences and the following specialist fields:

- Pharmaceutical formulation and manufacturing; Pharmaceutical chemistry and pharmacognosy; Pharmaceutical management;
- Pharmacology, clinical pharmacology;
- Analytical chemistry.

The content is licensed under Creative Commons Attribution International CC-BY 4.0.

There is no fee for publishing an article and reviewing a manuscript  
The content is licensed under Creative Commons Attribution International 4.0 CC-BY

|                      |                                    |
|----------------------|------------------------------------|
| Passed for printing: | 22.06.2023                         |
| Date of publication: | 28.06.2023                         |
| Subscription codes   | Pressa Rossii catalogue: 57942     |
|                      | Ural-Press agency catalogue: 57942 |

## Editorial Board

### Editor-in-Chief

**Valentina V. Kosenko**, Cand. Sci. (Pharm.) (Moscow, Russia)

### Deputy Editor-in-Chief

**Vladimir I. Petrov**, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia)

**Igor A. Rodin**, Dr. Sci. (Chem.), Prof., Lomonosov Moscow State University, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

### Executive Secretary

**Maria L. Khrushcheva**, Cand. Sci. (Chem.) (Moscow, Russia)

### Editorial Board Members

**Elena M. Astapenko**, Cand. Sci. (Tech.), Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

**Gulomkodir M. Bobizoda**, Dr. Sci. (Biol.), Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Aini Tajik State Pedagogical University (Dushanbe, Republic of Tajikistan)

**Natalia D. Bunyatyan**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

**Vladimir L. Gein**, Dr. Sci. (Chem.), Prof., Perm State Pharmaceutical Academy (Perm, Russia)

**Sergey V. Glagolev**, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

**Dmitry V. Goryachev**, Dr. Sci. (Med.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

**Irina V. Gravel**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

**Victor A. Dmitriev**, Cand. Sci. (Med.), Association of the Russian Pharmaceutical Manufacturers (Moscow, Russia)

**Andrey D. Durnev**, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Zakusov Institute of Pharmacology (Moscow, Russia)

**Svetlana N. Egorova**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Kazan State Medical University (Kazan, Russia)

**Edwin E. Zvartau**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Saint Petersburg, Russia)

**Susanne Keitel**, Ph.D. (Bonn, Germany)

**Elena L. Kovaleva**, Dr. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

**Natalia E. Kuz'mina**, Dr. Sci. (Chem.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

**Marina N. Makarova**, Dr. Sci. (Med.), Research and Manufacturing Company 'HOME OF PHARMACY' (Leningrad Region, Russia)

**Saule K. Ordabaeva**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., South Kazakhstan Medical Academy (Shymkent, Republic of Kazakhstan)

**Alexey B. Prokofiev**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

**Irina P. Remezova**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute (Pyatigorsk, Russia)

**Dmitry A. Rozhdestvensky**, Cand. Sci. (Med.), Department for Technical Regulation and Accreditation of the Eurasian Economic Commission (Moscow, Russia)

**Irina A. Samylina**, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

**Dmitry A. Sychev**, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Moscow, Russia)

**Rashid D. Syubaev**, Dr. Sci. (Med.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

**Azamat Z. Temerdashev**, Dr. Sci. (Chem.), Kuban State University (Krasnodar, Russia)

**Ardak U. Tulegenova**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Pharmacopoeial Committee of the Eurasian Economic Union

**Alexander L. Khokhlov**, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Yaroslavl State Medical University (Yaroslavl, Russia)

**Nikolay L. Shimanovsky**, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

**Roza I. Yagudina**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

**Elena N. Yakusheva**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Ryazan State Medical University (Ryazan, Russia)

|                           |                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Registration</b>       | The journal is registered as mass media by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Communications. Certificate PI No. FS77-82931 dated March 14, 2022 |
| <b>Contract publisher</b> | NEICON ISP LLC: 4/5 Letnikovskaya St., Moscow 115114                                                                                                                                                   |
| <b>Printing office</b>    | Triada Publishing House: 9 Tchaikovsky Ave, office 514, Tver 170034                                                                                                                                    |
| <b>Print run</b>          | 150 copies. Free price                                                                                                                                                                                 |

# Содержание

Том 13, №2 2023

| ГЛАВНАЯ ТЕМА:                                                                                                   |     | КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ                                                                                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| АВТОРИТЕТНОЕ МНЕНИЕ                                                                                             |     |                                                                                                                                                                |
| В.Г. Лужанин, В.А. Куркин,<br>И.В. Гравель                                                                      | 128 | Качество лекарственных растительных препаратов:<br>новые аспекты и решения                                                                                     |
| СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ                                                                            |     |                                                                                                                                                                |
| Н.С. Терёшина, М.Н. Лякина,<br>О.А. Наумова                                                                     | 134 | Гомеопатические лекарственные средства гаммелиса виргинского:<br>лекарственные формы и стандартизация                                                          |
| Т.К. Рязанова, В.А. Куркин                                                                                      | 146 | Актуальные вопросы стандартизации лекарственного растительного<br>сырья и фармацевтических субстанций растительного<br>происхождения, содержащих эфирные масла |
| В.М. Шукин, Е.А. Хорольская,<br>Н.Е. Кузьмина, И.П. Ремезова,<br>В.В. Косенко                                   | 154 | Особенности элементного состава ламинарии слоевищ<br>( <i>Laminaria thalli</i> ) различного происхождения                                                      |
| РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК ИССЛЕДОВАНИЯ                                                                     |     |                                                                                                                                                                |
| И.М. Моргунов, Н.П. Антонова,<br>Е.П. Шефер, С.С. Прохвятилова,<br>Т.А. Голомазова                              | 173 | Применение метода ВЭТСХ-денситометрии в количественном<br>определении суммы алкалоидов термопсиса экстракта сухого                                             |
| Т.А. Голомазова, Е.П. Шефер,<br>С.С. Прохвятилова,<br>Н.П. Антонова                                             | 184 | Определение аскорбиновой кислоты в лекарственных растительных<br>препаратах методом ВЭЖХ                                                                       |
| Н.П. Антонова, Е.П. Шефер,<br>С.С. Прохвятилова,<br>Н.Е. Семенова, В.Н. Макухин,<br>С.А. Кучугурин, М.С. Зотова | 195 | Сравнительная оценка требований к качеству лекарственных<br>препаратов, содержащих диосмин                                                                     |
| В.М. Шукин, А.А. Ерина,<br>Ю.Н. Швецова, Е.С. Жигилей,<br>Н.Е. Кузьмина                                         | 206 | Селективное определение органических и неорганических форм<br>мышьяка в слоевищах ламинарии и продуктах на их основе                                           |
| Н.А. Ковалёва, О.В. Тринеева,<br>И.В. Чувикова, А.И. Сливкин                                                    | 216 | Разработка и валидация методики количественного определения<br>флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной методом<br>спектрофотометрии                       |
| МЕЖДУНАРОДНОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО                                                                                    |     |                                                                                                                                                                |
| Г. Шмидт, Ж. Соьер,<br>К. Зриби, Р. ван дер Верф                                                                | 227 | Международная фармакопея: основные направления деятельности,<br>организация работы, борьба с COVID-19 и сотрудничество с другими<br>фармакопеями               |

# Contents

Volume 13, No. 2 2023

| MAIN TOPIC:                                                                                                         |     | КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ                                                                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                     |     | AUTHORITATIVE OPINION                                                                                                               |
| V.G. Luzhanin, V.A. Kurkin,<br>I.V. Gravel                                                                          | 128 | Quality of Herbal Medicines: New Aspects and Solutions                                                                              |
|                                                                                                                     |     | STANDARDISATION OF MEDICINES                                                                                                        |
| N.S. Teryoshina, M.N. Lyakina,<br>O.A. Naumova                                                                      | 134 | Homoeopathic Medicines of Virginian Witch Hazel: Dosage Forms and Standardisation                                                   |
| T.K. Ryazanova, V.A. Kurkin                                                                                         | 146 | Relevant Issues of Standardisation of Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations Containing Essential Oils                           |
| V.M. Shchukin, E.A. Khorolskaya,<br>N.E. Kuz'mina, I.P. Remezova,<br>V.V. Kosenko                                   | 154 | Elemental Composition of Kelp Thalli ( <i>Laminariae thalli</i> ) of Various Origins                                                |
|                                                                                                                     |     | DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES                                                                                 |
| I.M. Morgunov, N.P. Antonova,<br>E.P. Shefer, S.S. Prokhvatilova,<br>T.A. Golomazova                                | 173 | Determination of the Total Alkaloid Content of Thermopsis Dry Extract by HPTLC–Densitometry                                         |
| T.A. Golomazova, E.P. Shefer,<br>S.S. Prokhvatilova, N.P. Antonova                                                  | 184 | Quantitative Determination of Ascorbic Acid in Herbal Medicinal Products by HPLC                                                    |
| N.P. Antonova, E.P. Shefer,<br>S.S. Prokhvatilova, N.E. Semenova,<br>V.N. Makukhin, S.A. Kuchugurin,<br>M.S. Zotova | 195 | Comparative Assessment of Quality Requirements for Medicinal Products Containing Diosmin                                            |
| V.M. Shchukin, A.A. Erina,<br>Yu.N. Shvetsova, E.S. Zhigilei,<br>N.E. Kuz'mina                                      | 206 | Selective Quantification of Organic and Inorganic Arsenic in Kelp Thalli and Kelp-Based Products                                    |
| N.A. Kovaleva, O.V. Trineeva,<br>I.V. Chuvikova, A.I. Slivkin                                                       | 216 | Development and Validation of a Procedure for Quantitative Determination of Flavonoids in Sea Buckthorn Leaves by Spectrophotometry |
|                                                                                                                     |     | INTERNATIONAL COOPERATION                                                                                                           |
| H. Schmidt, J. Sawyer, K. Zribi,<br>R. van der Werf                                                                 | 227 | The International Pharmacopoeia: Focus, Processes, Response to COVID-19 and Collaboration with other Pharmacopoeias                 |





В.Г. Лужанин<sup>1</sup>   
В.А. Куркин<sup>2</sup>   
И.В. Гравель<sup>3</sup> 

## Качество лекарственных растительных препаратов: новые аспекты и решения

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Екатеринбургская ул., д. 110, г. Пермь, 614990, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Чапаевская ул., д. 89, г. Самара, 443099, Российская Федерация

<sup>3</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

### РЕЗЮМЕ

Лекарственное растительное сырье и лекарственные препараты растительного происхождения продолжают интересовать российских исследователей как с точки зрения разработки новых лекарственных средств, их эффективности и безопасности, так и методологии их изучения, использования новых аналитических методов, расширяющих возможности современной науки и медицины. Своими взглядами на перспективы применения лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе, а также оценки качества таких препаратов поделились кандидат биологических наук, доцент, ректор Пермской государственной фармацевтической академии Владимир Геннадьевич Лужанин; доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета Владимир Александрович Куркин и доктор фармацевтических наук, профессор, профессор Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова Ирина Валерьевна Гравель.

**Ключевые слова:** лекарственное растительное сырье; вторичные метаболиты растений; эфиромасличные растения; флавоноиды; биологическая активность; дикорастущие лекарственные растения; загрязненность растительного сырья

**Для цитирования:** Лужанин В.Г., Куркин В.А., Гравель И.В. Качество лекарственных растительных препаратов: новые аспекты и решения. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2023;13(2):128–133. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-2-128-133>

V.G. Luzhanin<sup>1</sup>   
V.A. Kurkin<sup>2</sup>   
I.V. Gravel<sup>3</sup> 

## Quality of Herbal Medicines: New Aspects and Solutions

<sup>1</sup> Perm State Pharmaceutical Academy,  
101, Ekaterininskaya St., Perm 614990, Russian Federation

<sup>2</sup> Samara State Medical University,  
89 Chapayevskaya St., Samara 443099, Russian Federation

<sup>3</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)  
8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

### ABSTRACT

Herbal drugs and herbal medicinal products remain of interest to Russian researchers both in terms of the development, efficacy, and safety of medicines, and in terms of the research methodology applicable to these medicine, as well as the use of new analytical methods expanding the boundaries of contemporary science and medicine. In this interview, Vladimir G. Luzhanin (Candidate of Sciences, Associate Professor, Rector of the Perm State Pharmaceutical Academy), Vladimir A. Kurkin (Doctor of Pharmaceutical Sciences, Full Professor, Chairman of the Department of Pharmacognosy with Botany and the Basics of Phytotherapy, Samara State Medical University), and Irina V. Gravel (Doctor of Pharmaceutical Sciences, Full Professor, Professor of the I.M. Sechenov First Moscow State Medical University) share their views on the application potential and future quality assessment of herbal medicines.

**Key words:** herbal drugs; secondary plant metabolites; essential-oil-containing plants; flavonoids; biological activity; wild medicinal plant; medicinal plant contamination

**For citation:** Luzhanin V.G., Kurkin V.A., Gravel I.V. Quality of herbal medicines: new aspects and solutions. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):128–133. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-2-128-133>



### В.Г. Лужанин Выделение индивидуальных соединений лекарственных растений для развития доказательной фитотерапии

– Владимир Геннадьевич, могут ли растения, на ваш взгляд, стать альтернативным источником лекарственных молекул для получения монопрепаратов?

Развитие доказательной медицины ставит перед фармакогнозией и фитотерапией новые задачи по изучению индивидуальных соединений растительного происхождения, оценке их вклада в биологическую активность, уточнению их синергетических эффектов. Установление мишени и механизма действия лекарственного

препарата растительного происхождения, представляющего собой сумму действующих веществ, крайне затруднительно и в настоящее время является существенным ограничивающим фактором современной лекарственной разработки. Один из современных подходов к изучению лекарственного растительного сырья основан на изучении его химического состава путем выделения и установления структуры новых природных индивидуальных соединений – потенциальных кандидатов в лекарственные средства. Природные источники биологически

активных молекул характеризуются более высоким химическим разнообразием по сравнению с веществами синтетического и биотехнологического происхождения, что в сочетании с современными методами физико-химического анализа, возможностями осуществления компьютерного прогноза фармакологической активности *in silico* отдельных молекул и развитием методов исследования *in vitro* обеспечивает основу для направленного поиска биологически активных комплексов и индивидуальных соединений растительного происхождения. Дополнительными факторами, обеспечивающими приоритет изучения лекарственного растительного сырья, являются доступность и возобновляемость природных ресурсов Российской Федерации, а также значительный объем знаний в области фармакогнозии, фитомедицины и этнофармакологии СССР, распространение которых длительное время было ограничено языковым барьером.

**– Каковы перспективы изучения химического строения индивидуальных соединений природного происхождения?**

В настоящее время отечественными научными группами осуществляется именно направленный поиск потенциальных лекарственных кандидатов в природном сырье, который обеспечивается предварительным изучением обширных литературных данных, сочетанным использованием различных прогностических моделей *in silico*, использованием масс-спектрометрии в анализе экстрактов для установления их

химического состава и определения целевых веществ для выделения. Такой подход позволяет существенно оптимизировать скрининговые исследования, изучая весь спектр вторичных метаболитов растений. После установления целевых молекул как наиболее перспективных с точки зрения лекарственной разработки возникает необходимость наработки высокотехнологичных субстанций, представляющих собой химически чистые индивидуальные соединения, получаемые из природных источников. Низкое количественное содержание индивидуальных веществ в растительном сырье подразумевает также оценку возможностей получения целевой субстанции синтетическим или полусинтетическим путем, однако зачастую использование лекарственного растительного сырья безальтернативно, что также обеспечивает необходимость развития отрасли лекарственного растениеводства. Применение описанного подхода к исследованию лекарственных растений подразумевает уточнение подходов к контролю качества растительного сырья, обеспечивая переход от оценки качества сырья по сумме веществ к оценке качества сырья по индивидуальным (маркерным) соединениям, однако корректный выбор маркеров, их вариабельность в сырье в зависимости от климатических условий, а также наличие в лекарственном растительном сырье других групп действующих соединений открывают новые горизонты для научно-практических дискуссий и определяют путь дальнейшего развития фармакогностической науки в целом.



**В.А. Куркин**  
**Фенилпропаноиды — одна из важных групп биологически активных соединений фармакопейных растений**

**– Владимир Александрович, вы много лет возглавляете одну из профильных кафедр фармацевтического факультета Самарского государственного медицинского университета — кафедру фармакогнозии с ботаникой и основами**

**фитотерапии. Расскажите, что нового появилось в области изучения лекарственных растений.**

В соответствии с разработанной нами химической классификацией лекарственного растительного сырья (ЛРС) в фармакогнозию введены

фенилпропаноиды как самостоятельный класс биологически активных соединений (БАС) с точки зрения физико-химических, химических, спектральных свойств и фармакологической активности<sup>1</sup> [1–5], а также на основе современных представлений о биосинтезе фенольных соединений, в котором ключевую роль играют коричневые спирты и коричневые кислоты [4]. Этот класс БАС, на наш взгляд, является перспективным источником адаптогенных, тонизирующих, иммуномодулирующих, гепатопротекторных и антиоксидантных лекарственных средств. Поэтому в современную химическую классификацию лекарственного сырья фармакопейных растений, фенилпропаноиды и введены, что нашло отражение в учебниках «Фармакогнозия»<sup>2</sup>, а также в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания.

#### – А почему для исследований выбраны именно фенилпропаноиды?

В химическую группу фенилпропаноидов включены такие виды ЛРС, как корневища и биомасса родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.), корневища и корни элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.), кора сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.), плоды расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.), трава эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.), плоды и семена лимонника китайского (*Schizandra chinensis* Bail.) и др. Кроме того, в целом ряде видов лекарственного сырья, в частности эфиромасличных растений (мелисса лекарственная, лаванда колосовая), фенилпропаноиды играют роль второй группы действующих веществ, придающих лекарственным препаратам уникальные фармакологические свойства. Это важно еще и в случае получения экстракционных препаратов (настой, настойка, экстракты) из эфиромасличного сырья, где присутствуют не только эфирные масла, но и действующие вещества с другими функциональными группами (фенилпропаноиды, флавоноиды, дубильные вещества). При анализе качества таких препаратов используют методологический

подход, основанный на определении 2–3 групп БАС, имеющих диагностическое значение<sup>3</sup> [3].

Из 107 видов ЛРС, включенных в Государственную фармакопею Российской Федерации XIV издания, стандартизация 70 видов ЛРС осуществляется по содержанию фенольных соединений [1]. Наибольший интерес с точки зрения стандартизации ЛРС представляют фенилпропаноиды, выделенные из корневищ родиолы розовой (розавин), биомассы родиолы розовой (триандрин), корневищ элеутерококка колючего (сирингин, или элеутерозид В), коры сирени обыкновенной (сирингин), лимонника китайского (гамма-схизандрин), расторопши пятнистой (силибин), мелиссы лекарственной (розмариновая кислота), эхинацеи пурпурной (цикориевая кислота), лаванды колосовой (лавандозид) [5]. Именно эти БАС имеют диагностическое значение и рекомендованы в качестве фармакопейных стандартных образцов (ФСО) для оценки качества ЛРС. Кроме того, в качестве ФСО для определения основных групп действующих веществ могут использоваться такие фенилпропаноиды, как хлорогеновая и кофейная кислоты.

#### – Вы упомянули стандартные образцы. А какое значение имеет разработка новых стандартных образцов для фармакогностических исследований?

Следует отметить, что глубокое изучение химического состава ЛРС открывает новые возможности в плане выявления новых БАС и решения проблемы стандартизации. Ключевым моментом в решении этого вопроса является использование в методиках анализа ФСО, что создает предпосылки для более широкого применения тонкослойной, газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографии для целей стандартизации сырья и фитопрепаратов. При этом фармакогнозия, развивая и совершенствуя анатомо-морфологические методы исследования и не отказываясь от классических качественных («пробирочных») реакций, в методическом и методологическом отношении становится все более «хроматографической» наукой, что находится в соответствии с общемировой тенденцией<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). Самара: ООО «Полиграфическое объединение «Стандарт»; 2020.

<sup>2</sup> Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия. М.: Медицина; 2002.

Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016.

Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). Самара: ООО «Полиграфическое объединение «Стандарт»; 2020.

<sup>3</sup> European Pharmacopoeia 10th ed. Strasbourg; 2019.

<sup>4</sup> Там же.



## **И.В. Гравель** **Безопасность и эффективность** **растительных препаратов:** **экологические аспекты**

**– Ирина Валерьевна, как в настоящее время контролируется безопасность применения лекарственных препаратов растительного происхождения в связи с возросшим загрязнением окружающей среды?**

Вопросы оценки безопасности и эффективности лекарственных средств приобретают реальную актуальность в современных экологических условиях. С одной стороны, увеличивается номенклатура лекарственных растительных препаратов и растет спрос на лекарственное растительное сырье, традиционно используемое в фармацевтической практике. С другой стороны, изучение традиционных медицинских систем разных стран открывает возможности перед производителями в получении новых растительных средств с разными спектрами фармакологической активности. Вместе с тем появление новых видов лекарственного растительного сырья в поле зрения исследователей ставит новые задачи по определению не только содержания биологически активных веществ, но и уровней экотоксикантов, которые в той или иной степени неизбежно накапливаются в частях лекарственных растений, произрастающих в разных экологических зонах. Конечно, соблюдение общих правил заготовок (удаленность от промышленных предприятий и крупных автомобильных магистралей) снижает вероятность накопления высоких концентраций токсичных элементов (свинца, кадмия, ртути, мышьяка). Появляются новые сведения о токсичности элементов, которые сравнительно недавно рассматривались исключительно как эссенциальные (в частности, хром). Накопление данных элементного анализа отдельных видов лекарственного растительного сырья делает очевидным нормирование отдельных элементов в конкретных видах растительного сырья (мышьяк – слоевище ламинарии, в перспективе кадмий – в траве фиалки и др.). Современный

подход к оценке безопасности использования растительных препаратов предполагает не только оценку возможного поступления экотоксикантов в организм человека в их составе, но и расчет потенциального риска для здоровья с позиций риск-ориентированной стратегии.

В результате глобальной миграции населения пестициды обнаруживаются в сырье, собранном не только от культивируемых, но и от дикорастущих лекарственных растений. Поэтому необходимо создание банка данных о накоплении пестицидов разных классов в сырье отдельных видов, произрастающих в разных регионах. В настоящее время достаточное количество данных накоплено в отношении хлорорганических пестицидов, в последние годы стали появляться публикации, посвященные методикам определения и фосфорорганических пестицидов, которые используются чаще.

**– Какие новые показатели качества лекарственного растительного сырья могут быть добавлены к существующим требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации?**

Особую роль приобретает микробиологическая загрязненность лекарственного растительного сырья и препаратов в связи с поступлением на российский фармацевтический рынок сырья из стран с тропическим и субтропическим климатом. Лишь в отдельных видах сырья Европейская фармакопея нормирует содержание афлотоксинов и охратоксина А. В Государственной фармакопее Российской Федерации такие нормы пока отсутствуют, в то время как для пищевого растительного сырья они действуют. Поэтому проведение систематических исследований этих групп токсикантов не только в растительном сырье, но и препаратах на его основе позволит в полной мере реализовать основную заповедь врача «не навреди» с точки зрения поступления



экоотоксикантов вместе с лекарственными растительными препаратами.

И, наконец, номенклатуру радионуклидов, определяемых в растительном сырье, возможно следует пересмотреть и расширить за счет калия, тория, урана. Эти элементы могут в естественных

условиях находиться в окружающей среде и объектах биосферы и накапливаться в частях лекарственных растений, как показали исследования последних лет. Все эти вопросы требуют обсуждения и решения на разных уровнях — аналитическом, методическом, законодательном.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Запесочная ГГ, Куркин ВА, Бойко ВП, Колхир ВК. Фенилпропаноиды — перспективные биологически активные соединения лекарственных растений. *Химико-фармацевтический журнал*. 1995;29(4):47–50.  
Zapesochnaya GG, Kurkin VA, Boiko VP, Kolchir VK. Phenylpropanoids as promising biologically active substances from medicinal plants. *Pharm Chem J*. 1995;29(4):277–80.  
<https://doi.org/10.1007/BF02219555>
2. Куркин ВА. Современные аспекты химической классификации биологически активных соединений лекарственных растений. *Фармация*. 2002;50(2):8–16.  
Kurkin VA. Modern aspects of chemical classification of biologically active compounds of medicinal plants. *Pharmacy*. 2002;50(2):8–16 (In Russ.).
3. Куркин ВА. Актуальные аспекты стандартизации сырья и препаратов, содержащих фенольные соединения. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(2):127–41.  
Kurkin VA. Relevant aspects of standardisation of plant raw materials and herbal medicinal products containing phenolic compounds. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(2):127–41 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-2-127-141>
4. Куркин ВА. Фенилпропаноиды из лекарственных растений: распределение, классификация, структурный анализ, и биологическая активность. *Chem Nat Compd*. 2003;39(2):123–53.  
<https://doi.org/10.1023/A:1024876810579>
5. Куркин ВА. Фенилпропаноиды как важная группа биологически активных соединений лекарственных растений. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015;12(7):1338–42.  
Kurkin VA. Phenylpropanoids as the important biologically active compounds of medicinal plants. *International Journal of Applied and Basic Research*. 2015;12(7):1338–42 (In Russ.). EDN: [VJFUHR](https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-2-127-141)

#### ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Лужанин Владимир Геннадьевич**, канд. биол. наук, доцент

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>  
[vladimir.luzhanin@pharminnotech.com](mailto:vladimir.luzhanin@pharminnotech.com)

**Куркин Владимир Александрович**, д-р фарм. наук, профессор

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>  
[v.a.kurkin@samsmu.ru](mailto:v.a.kurkin@samsmu.ru)

**Гравель Ирина Валерьевна**, д-р фарм. наук, профессор

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3735-2291>  
[gravel\\_i\\_v@staff.sechenov.ru](mailto:gravel_i_v@staff.sechenov.ru)

**Vladimir G. Luzhanin**, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>  
[vladimir.luzhanin@pharminnotech.com](mailto:vladimir.luzhanin@pharminnotech.com)

**Vladimir A. Kurkin**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>  
[v.a.kurkin@samsmu.ru](mailto:v.a.kurkin@samsmu.ru)

**Irina V. Gravel**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3735-2291>  
[gravel\\_i\\_v@staff.sechenov.ru](mailto:gravel_i_v@staff.sechenov.ru)





Н.С. Терёшина   
М.Н. Лякина   
О.А. Наумова 

## Гомеопатические лекарственные средства гамамелиса виргинского: лекарственные формы и стандартизация

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

✉ Терёшина Наталья Сергеевна; [tereshina@expmed.ru](mailto:tereshina@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

Анализ нормативной документации на гомеопатические лекарственные препараты на основе гамамелиса виргинского показал, что требуется изменение подходов к оценке качества таких препаратов и унификация методик по таким показателям, как «Подлинность», «Количественное определение». **Цель работы:** определение подходов к оценке показателей «Подлинность» и «Количественное определение» в настойках гомеопатических матричных из листьев и коры гамамелиса виргинского и лекарственных препаратах на их основе. **Материалы и методы:** с целью подбора методик оценки качества лекарственных средств анализировали данные научной литературы, отечественной и зарубежных фармакопей и нормативной документации на гомеопатические лекарственные средства на основе гамамелиса виргинского. Подобранные методики, основанные на применении методов тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии, качественного анализа, титриметрии, апробировали на образцах настоек гомеопатических матричных из листьев и коры гамамелиса виргинского, а также гомеопатических лекарственных препаратов в различных лекарственных формах. **Результаты:** предложены методики установления подлинности и количественного определения для фармацевтических субстанций и гомеопатических лекарственных препаратов. Подготовлены проекты фармакопейных статей «Гамамелис виргиниана е фолиис (Гамамелис, Фолиум) — *Hamamelis virginiana* e foliis (*Hamamelis, Folium*) настойка гомеопатическая матричная», «Гамамелис виргиниана (Гамамелис) — *Hamamelis virginiana* (*Hamamelis*) настойка гомеопатическая матричная». Унифицированные методики включены в проекты ФС на гомеопатические лекарственные препараты «Гамамелис, капли гомеопатические», «Гамамелис D1, мазь гомеопатическая», «Гамамелис, фолиум D1, мазь гомеопатическая», «Гамамелис виргиниана е фолиис D1, суппозитории ректальные гомеопатические». **Выводы:** предложенные методики отвечают требованиям сквозной стандартизации, позволяют устанавливать подлинность и проводить количественное определение в ряду от фармацевтических субстанций до гомеопатических лекарственных препаратов на их основе по одним группам биологически активных веществ. Предложена методология оценки качества гомеопатических лекарственных препаратов с учетом степени разведения используемых гомеопатических фармацевтических субстанций.

**Ключевые слова:** стандартизация; фармакопейная статья; гомеопатические лекарственные средства; дубильные вещества; флавоноиды; тонкослойная хроматография; спектрофотометрия; качественные реакции; титриметрия; гамамелис виргинский; кора; листья

**Для цитирования:** Терёшина Н.С., Лякина М.Н., Наумова О.А. Гомеопатические лекарственные средства гамамелиса виргинского: лекарственные формы и стандартизация. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(2):134–145. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-388>

N.S. Teryoshina ✉   
M.N. Lyakina   
O.A. Naumova 

## Homoeopathic Medicines of Virginian Witch Hazel: Dosage Forms and Standardisation

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

✉ Natalia S. Teryoshina; [tereshina@expmed.ru](mailto:tereshina@expmed.ru)

### ABSTRACT

According to the authors' analysis of regulatory documents for homoeopathic medicines of Virginian witch hazel (*Hamamelis virginiana* L.), there is a need to transform quality assessment approaches and to unify analytical procedures for identification and assay tests. **The aim of the study** was to determine approaches to identification and assay of homoeopathic mother tinctures of Virginian witch hazel leaves and bark and medicinal products based on the tinctures. **Materials and methods:** in order to select quality evaluation procedures, the authors analysed scientific literature, Russian and foreign pharmacopoeias and regulatory documentation regarding homoeopathic medicines of Witch hazel. The authors performed practical evaluation of the selected procedures based on thin-layer chromatography, spectrophotometry, qualitative reactions, and titrimetry, using samples of homoeopathic mother tinctures of Witch hazel leaves and bark, as well as corresponding homoeopathic medicinal products in various dosage forms. **Results:** the authors proposed identification and assay procedures for the studied active pharmaceutical ingredients (APIs) and homoeopathic medicinal products and prepared the drafts of pharmacopoeial monographs *Hamamelis virginiana e foliis* (*Hamamelis, Folium*) homoeopathic mother tincture and *Hamamelis virginiana* (*Hamamelis*) homoeopathic mother tincture. The unified procedures were included in the draft monographs for homoeopathic medicinal products *Hamamelis, homoeopathic drops*; *Hamamelis D1, homoeopathic ointment*; *Hamamelis, folium D1, homoeopathic ointment*; *Hamamelis virginiana e foliis D1, rectal homoeopathic suppositories*. **Conclusions:** the developed procedures are compatible with the principle of holistic, end-to-end standardisation, as they make it possible to carry out identification tests and assays using the same class of biologically active compounds throughout the whole range of homoeopathic medicines from APIs to finished products. The authors proposed the methodology for assessing homoeopathic medicinal products' quality, taking into account the degree of dilution of the homoeopathic tinctures used.

**Key words:** standardisation; pharmacopoeia monograph; homoeopathic medicines; tannins; flavonoids; TLC; spectrophotometry; qualitative reactions; titrimetry; Virginian witch hazel; bark; leaves

**For citation:** Teryoshina N.S., Lyakina M.N., Naumova O.A. Homoeopathic medicines of Virginian witch hazel: dosage forms and standardisation. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):134–145. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-388>

### Введение

На фармацевтическом рынке Российской Федерации гомеопатические лекарственные препараты на основе гаммелиса виргинского представлены в различных лекарственных формах (гранулы, капли, мази, оподельдоки, суппозитории, таблетки, растворы для инъекций), и зарегистрированы как моно-, так и многокомпонентные препараты (табл. 1)<sup>1</sup>.

Изучение гаммелиса с целью использования в гомеопатии начал в 1851 г. Р.А. Престон,

затем его наблюдения были подтверждены М.Д. Герингом [1], Г. Кларком<sup>2</sup>, У. Берике<sup>3</sup> и другими исследователями. Обнаружено, что биологически активные вещества гаммелиса проявляют противовирусную активность против вирусов гриппа А и папилломы, также установлена их цитотоксическая активность [2, 3]. Лекарственные препараты гаммелиса применяются в общей практике при лечении геморроя и варикозного расширения вен [4–6]. Гомеопатические лекарственные препараты

<sup>1</sup> <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>

<sup>2</sup> Hamamelis. The Encyclopedia of Pure Materia Medica. <http://www.homeoint.org/allen/h/ham.htm>

<sup>3</sup> Hamamelis virginiana. Homoeopathic Materia Medica. <http://www.homeoint.org/books/boericmm/h/ham.htm>

**Таблица 1.** Гомеопатические лекарственные препараты на основе гаммелиса виргинского**Table 1.** Hamamelis virginiana-based homoeopathic medicinal products

| Торговое наименование / Производитель<br><i>Trade name / Manufacturer</i>                                                                                                                                      | Состав препарата<br>(активные компоненты)<br><i>Formulation (active ingredients)</i>                                                                                | Показания к применению<br><i>Therapeutic indications</i>                                                                                                                                                                                     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Препараты на основе фармацевтической субстанции, полученной из листьев высушенных</b><br><i>Medicinal products containing an active ingredient produced from dry leaves</i>                                 |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                              |
| Гаммелис, мазь для наружного и местного применения гомеопатическая (ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика»)<br><i>Hamamelis, cutaneous and rectal homoeopathic ointment (Moscow Pharmaceutical Factory)</i> | Hamamelis virginiana D1                                                                                                                                             | Острый неосложненный геморрой.<br>В качестве вспомогательного средства при варикозном расширении вен нижних конечностей<br><i>Acute uncomplicated haemorrhoids. Adjunct therapy for lower limb varicose veins</i>                            |
| Гаммелис, суппозитории ректальные гомеопатические (ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика»)<br><i>Hamamelis, rectal homoeopathic suppositories (Moscow Pharmaceutical Factory)</i>                           | Hamamelis virginiana D1                                                                                                                                             | Острый неосложненный геморрой<br><i>Acute uncomplicated haemorrhoids</i>                                                                                                                                                                     |
| <b>Препараты на основе фармацевтической субстанции, полученной из коры свежей</b><br><i>Medicines containing an active ingredient produced from fresh bark</i>                                                 |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                              |
| Гаммелис ДН, суппозитории ректальные гомеопатические (ООО «ДОКТОР Н»)<br><i>Hamamelis DN, rectal homoeopathic suppositories (DOCTOR N)</i>                                                                     | Hamamelis virginiana D2                                                                                                                                             | Неосложненный геморрой<br><i>Uncomplicated haemorrhoids</i>                                                                                                                                                                                  |
| Гаммелис ДН, опodelдок гомеопатический (ООО «ДОКТОР Н»)<br><i>Hamamelis DN, homoeopathic opodeldoc (DOCTOR N)</i>                                                                                              | Hamamelis virginiana C6                                                                                                                                             | Применяется в комплексной терапии варикозного расширения вен с нарушением венозного кровообращения I степени<br><i>Part of combination therapy for varicose veins with Grade I venous insufficiency</i>                                      |
| Гаммелис ДН, мазь для местного применения гомеопатическая (ООО «ДОКТОР Н»)<br><i>Hamamelis DN, rectal homoeopathic ointment (DOCTOR N)</i>                                                                     | Hamamelis virginiana D2                                                                                                                                             | Неосложненные формы наружного геморроя<br><i>Uncomplicated forms of external haemorrhoids</i>                                                                                                                                                |
| Гаммелис-ГФ, мазь для местного применения гомеопатическая (ООО «Гомеопатическая фармация»)<br><i>Hamamelis-GF, rectal homoeopathic ointment (Gomeopaticheskaya farmatsiya)</i>                                 | Hamamelis virginiana D1                                                                                                                                             | Неосложненные формы наружного геморроя<br><i>Uncomplicated forms of external haemorrhoids</i>                                                                                                                                                |
| Меркур-плюс, капли для приема внутрь гомеопатические (ООО «ДОКТОР Н»)<br><i>Mercur-plus, oral homoeopathic drops (DOCTOR N)</i>                                                                                | Hamamelis virginiana C6, Mercurius solubilis Hahnemanni C12, Echinacea purpurea C6, Calendula officinalis C6, Aesculus hippocastanum C6, Arnica montana (Arnica) C6 | Травматический, закрытый диафизарный, без смещения костных отломков перелом лучевой кости (в комплексном лечении)<br><i>Traumatic, closed diaphyseal radius fracture without bone fragment displacement (as part of combination therapy)</i> |
| Арнес Эдас-203, мазь для местного и наружного применения гомеопатическая (ОАО «Холдинг «Эдас»)<br><i>Arnes Edas-203, cutaneous and rectal homoeopathic ointment (Kholding Edas)</i>                            | Hamamelis virginiana D3, Aesculus hippocastanum D3, Paeonia officinalis D3, Arnica montana D3, Calendula officinalis D3, Atropa bella-donna D3                      | В комплексной терапии варикозного расширения вен нижних конечностей, наружного неосложненного геморроя<br><i>Part of combination therapy for lower limb varicose veins, external uncomplicated haemorrhoids</i>                              |
| Кантацит Эдас-940, гранулы гомеопатические (ОАО «Холдинг «Эдас»)<br><i>Kantacit Edas-940, homoeopathic granules (Kholding Edas)</i>                                                                            | Hamamelis virginiana C3, Berberis vulgaris C3, Arctostaphylos uva-ursi C3, Calendula officinalis C3, Lytta vesicatoria C6, Mercurius solubilis Hahnemanni C6        | Комплексное лечение хронического цистита, уретрита<br><i>Part of combination therapy for chronic cystitis, urethritis</i>                                                                                                                    |
| Кантацит Эдас-140, капли гомеопатические (ОАО «Холдинг «Эдас»)<br><i>Kantacit Edas-140, homoeopathic drops (Kholding Edas)</i>                                                                                 | Hamamelis virginiana C3, Berberis vulgaris C3, Arctostaphylos uva-ursi C3, Calendula officinalis C3, Lytta vesicatoria C6, Mercurius solubilis Hahnemanni C6        | Комплексное лечение хронического цистита, уретрита<br><i>Part of combination therapy for chronic cystitis, urethritis</i>                                                                                                                    |

Продолжение таблицы 1

Table 1 (continued)

| Торговое наименование / Производитель<br><i>Trade name / Manufacturer</i>                                                                                                                                              | Состав препарата<br>(активные компоненты)<br><i>Formulation (active ingredients)</i>                                                                                                                                 | Показания к применению<br><i>Therapeutic indications</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Каленгам Эдас-201, мазь гомеопатическая (ООО «Эдас»)<br><i>Kalengam Edas-201, homeopathic ointment (Edas)</i>                                                                                                          | Hamamelis virginiana D3, Arnica montana D3, Calendula officinalis D2, Облепихи масло (Buckthorn oil), Propolis D1                                                                                                    | Комплексное лечение ушибов, ожогов I–II степеней, пролежней<br><i>Part of combination therapy for closed wounds, I–II degree burns, bed sores</i>                                                                                                                                                                                                                          |
| Мазь Флеминга®, мазь для местного и наружного применения гомеопатическая (ООО «Гомеопатическая фармация»)<br><i>Fleming ointment®, cutaneous, nasal and rectal homeopathic ointment (Gomeopaticheskaya farmatsiya)</i> | Hamamelis virginiana D1, Calendula officinalis herba (Calendula) D1, Aesculus hippocastanum D1, Mentholum, Zinci oxidum                                                                                              | Наружный геморрой, аллергический дерматит, вазомоторный ринит<br><i>External haemorrhoids, allergic dermatitis, vasomotor rhinitis</i>                                                                                                                                                                                                                                     |
| Миал Эдас-401, оподельдок гомеопатический (ООО «Эдас»)<br><i>Myal Edas-401, homeopathic opodeldoc (Edas)</i>                                                                                                           | Hamamelis virginiana D3, Arnica montana D3, Toxicodendron quercifolium D3                                                                                                                                            | В качестве симптоматического средства для лечения закрытых травм, ушибов, кровоподтеков, варикозного расширения вен (в комплексной терапии)<br><i>Symptomatic treatment of (closed) injuries, bruises, varicose veins (as part of combination therapy)</i>                                                                                                                 |
| Проктоит®-ГФ, гранулы гомеопатические (ООО «Гомеопатическая фармация»)<br><i>Proctoit®-GF, homeopathic granules (Gomeopaticheskaya farmatsiya)</i>                                                                     | Hamamelis virginiana D3, Strychnos nux-vomica C3, Aesculus hippocastanum D3                                                                                                                                          | В составе комплексной терапии для лечения хронического геморроя в стадии обострения<br><i>Part of combination therapy for exacerbated chronic haemorrhoids</i>                                                                                                                                                                                                             |
| Купрум-плюс, капли для приема внутрь гомеопатические (ООО «ДОКТОР Н»)<br><i>Cuprum-plus, oral homeopathic drops (DOCTOR N)</i>                                                                                         | Hamamelis virginiana C3, C6, C12, Arnica montana C3, C6, C12, Gelsemium C3, C6, C12, Crataegus C3, C6, C12, Cuprum metallicum C6, C12, Pulsatilla pratensis C3, Sepia officinalis C3, Spigelia anthelmia C3, C6, C12 | В комплексной терапии нейроциркуляторной дистонии по гипертоническому типу, метеозависимости<br><i>Part of combination therapy for hypertonic-type neurocirculatory asthenia, meteorosensitivity</i>                                                                                                                                                                       |
| Венофлебин®, гранулы гомеопатические (ООО «Алкой»)<br><i>Venophlebin®, homeopathic granules (Alcoy)</i>                                                                                                                | Hamamelis virginiana D6, Apis mellifica D4, D10, Arnica montana D3, Colchicum autumnale D4, Ruta graveolens D4, Vipera berus D15                                                                                     | Варикозная болезнь вен нижних конечностей, хроническая венозная недостаточность I–II степени; в комплексном лечении геморроя, а также его осложненных форм (тромбоз геморроидальных вен)<br><i>Lower limb varicose veins, Grade I–II chronic venous insufficiency; part of combination therapy for haemorrhoids, including complicated forms (thrombosed haemorrhoids)</i> |
| Иов-венум, капли для приема внутрь гомеопатические (ООО «Талион-А»)<br><i>Iov-venum, oral homeopathic drops (Talio-A)</i>                                                                                              | Hamamelis virginiana D6, Arnica montana D6, Sulfur D30, Lachesis mutus D30                                                                                                                                           | В комплексной терапии варикозного расширения вен нижних конечностей с воспалением<br><i>Part of combination therapy for lower limb varicose veins with inflammation</i>                                                                                                                                                                                                    |
| Веномил Эдас-120, капли для приема внутрь гомеопатические (ОАО «Холдинг «Эдас»)<br><i>Venomil Edas-120, oral homeopathic drops (Kholding Edas)</i>                                                                     | Hamamelis virginiana C3, Aesculus hippocastanum C3, Amica montana C6, Pulsatilla pratensis C3                                                                                                                        | В качестве симптоматического средства в комплексном лечении варикозного расширения поверхностных вен нижних конечностей I–II стадий<br><i>Symptomatic treatment of Stage I–II lower limb superficial varicose veins (as part of combination therapy)</i>                                                                                                                   |
| Пеония-плюс, гранулы гомеопатические (ООО «ДОКТОР Н»)<br><i>Paeonia-plus, homeopathic granules (DOCTOR N)</i>                                                                                                          | Hamamelis virginiana C3, Paeonia officinalis C3, Acidum nitricum C3, Krameria triandra C3, Arnica montana C3, Aesculus hippocastanum C3                                                                              | Варикозная болезнь вен нижних конечностей и хроническая венозная недостаточность I–II степени<br><i>Lower limb varicose veins and Grade I–II chronic venous insufficiency</i>                                                                                                                                                                                              |

Продолжение таблицы 1

Table 1 (continued)

| Торговое наименование / Производитель<br><i>Trade name / Manufacturer</i>                                                                                                                           | Состав препарата<br>(активные компоненты)<br><i>Formulation (active ingredients)</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Показания к применению<br><i>Therapeutic indications</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Пеония-плюс, капли для приема внутрь<br>гомеопатические (ООО «ДОКТОР Н»)<br><i>Paonia-plus, oral homoeopathic drops<br/>(DOCTOR N)</i>                                                              | Hamamelis virginiana C3,<br>Paeonia officinalis C3, Acidum<br>nitricum C3, Krameria triandra<br>C3, Arnica montana C3, Aescu-<br>lus hippocastanum C3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Варикозная болезнь вен нижних<br>конечностей и хроническая венозная<br>недостаточность I–II степени<br><i>Lower limb varicose veins and Grade I–II<br/>chronic venous insufficiency</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Эскулюс композитум, капли для приема<br>внутри гомеопатические (Биологише<br>Хайльмиттель Хеель ГмбХ)<br><i>Aesculus compositum, oral homoeopathic drops<br/>(Biologische Heilmittel Heel GmbH)</i> | Hamamelis virginiana D4,<br>Aesculus hippocastanum D1,<br>Secale cornutum D3, Viscum<br>album D2, Nicotiana tabacum<br>D10, Solanum nigrum D6,<br>Arnica montana D3, Echinacea<br>D2, Baptisia tinctoria D4, Rhus<br>toxicodendron D4, Cuprum<br>metallicum D13, Ruta grave-<br>olens D4, Solanum dulcamara<br>D4, Colchicum autumnale<br>D4, Barium jodatum D6, Apis<br>mellifica D4, Acidum benzoicum<br>e resina D4, Eupatorium can-<br>nabinum D3, Arteria suis D10,<br>Natrium pyruvicum D8 | Комплексная терапия нарушений<br>периферического кровообращения<br>(облитерирующий эндоартериит,<br>артериосклероз, варикозное<br>расширение вен)<br><i>Part of combination therapy for peripheral<br/>circulation disorders (obliterating endarteritis,<br/>arteriosclerosis, varicose veins)</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Л-ВЕН, капли для приема внутрь гомеопатические (Лаборатория Ленинг С.а.С.)<br><i>L-VEN, oral homoeopathic drops (Laboratoires<br/>Lehning C.a.C.)</i>                                               | Hamamelis virginiana Ø, China<br>rubra D 4, Adrenalinum D6,<br>Secale cornutum D4, Vinca<br>minor D3, Calcareia muriatica D3,<br>Clematis vitalba D4, Hydrastis<br>canadensis D4, Carduus mari-<br>anus Ø, Trillium pendulum D3                                                                                                                                                                                                                                                                  | В комплексной терапии при варикозной<br>болезни вен нижних конечностей<br>и хронической венозной<br>недостаточности I–II степени, геморрое<br><i>Part of combination therapy for lower limb<br/>varicose veins and Grade I–II chronic venous<br/>insufficiency, haemorrhoids</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Траумель® С, капли гомеопатические<br>для приема внутрь (Биологише Хайльмит-<br>тель Хеель ГмбХ)<br><i>Traumeel® C, oral homoeopathic drops (Biolo-<br/>gische Heilmittel Heel GmbH)</i>            | Hamamelis virginiana D2,<br>Arnica montana D2, Calendula<br>officinalis D2, Achillea mille-<br>folium D3, Atropa bella-donna<br>D4, Aconitum napellus D3,<br>Mercurius solubilis Hahnemanni<br>D8, Hepar sulfuris D8, Chamo-<br>milla recutita D3, Symphytum<br>officinale D8, Bellis perennis<br>D2, Echinacea D2, Echinacea<br>purpurea D2, Hypericum per-<br>foratum D2                                                                                                                       | Комплексная терапия воспалительных<br>заболеваний различных органов<br>и тканей, особенно опорно-<br>двигательного аппарата (тендовагинит,<br>бурсит, стилоидит, эпикондилит,<br>периартрит и др.) и посттравматических<br>состояний (отек мягких тканей после<br>операции, вывихов, растяжений)<br><i>Part of combination therapy for inflammatory<br/>processes in different organs and tissues,<br/>especially in musculoskeletal disorders<br/>(tendovaginitis, bursitis, styloiditis, epicon-<br/>dylitis, periarthritis, etc.) and post-traumatic<br/>conditions (post-operative soft tissue oedema,<br/>joint dislocations, sprains)</i>                                                              |
| Траумель® С, таблетки для рассасывания<br>гомеопатические (Биологише Хайльмиттель<br>Хеель ГмбХ)<br><i>Traumeel® C, sublingual homoeopathic tablets<br/>(Biologische Heilmittel Heel GmbH)</i>      | Hamamelis virginiana D2,<br>Arnica montana D2, Calendula<br>officinalis D2, Achillea mille-<br>folium D3, Atropa bella-donna<br>D4, Aconitum napellus D3,<br>Mercurius solubilis Hahnemanni<br>D8, Hepar sulfuris D8, Chamo-<br>milla recutita D3, Symphytum<br>officinale D8, Bellis perennis<br>D2, Echinacea D2, Echinacea<br>purpurea D2, Hypericum per-<br>foratum D2                                                                                                                       | Комплексная терапия воспалительных<br>заболеваний различных органов<br>и тканей, особенно опорно-<br>двигательного аппарата (тендовагинит,<br>бурсит, стилоидит, эпикондилит,<br>периартрит) и посттравматических<br>состояний (вывих, растяжение связок,<br>сухожилий и мышц, отек мягких тканей<br>после операции и травмы)<br><i>Part of combination therapy for inflammatory<br/>processes in different organs and tissues,<br/>especially in musculoskeletal disorders (ten-<br/>dovaginitis, bursitis, styloiditis, epicondylitis,<br/>periarthritis) and post-traumatic conditions<br/>(dislocation, ligament/tendon/muscle sprain,<br/>post-operative and post-traumatic soft tissue<br/>oedema)</i> |



Продолжение таблицы 1

Table 1 (continued)

| Торговое наименование / Производитель<br><i>Trade name / Manufacturer</i>                                                                                                                                                                                | Состав препарата<br>(активные компоненты)<br><i>Formulation (active ingredients)</i>                                                                                                                                                                                                                                                    | Показания к применению<br><i>Therapeutic indications</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Траумель® С, мазь для наружного применения гомеопатическая)<br>Биологише Хайльмитель Хеель ГмбХ)<br><i>Traumeel® C, cutaneous homeopathic ointment (Biologische Heilmittel Heel GmbH)</i>                                                                | Hamamelis virginiana Ø, Arnica montana D3, Calendula officinalis Ø, Echinacea (Эхинацея) Ø, Echinacea purpurea Ø, Chamomilla recutita Ø, Symphytum officinale D4, Bellis perennis Ø, Hypericum perforatum D6, Achillea millefolium Ø, Aconitum napellus D1, Atropa bella-donna D1, Mercurius solubilis Hahnemanni D6, Hepar sulfuris D6 | Комплексная терапия воспалительных заболеваний различных органов и тканей, особенно опорно-двигательного аппарата (тендовагинит, бурсит, стилоидит, эпикондиллит, периартрит и др.) и посттравматических состояний (отек мягких тканей после операции, вывихов, растяжений)<br><i>Part of combination therapy for inflammatory processes in different organs and tissues, especially in musculoskeletal disorders (tendovaginitis, bursitis, styloiditis, epicondylitis, periarthritis, etc.) and post-traumatic conditions (post-operative soft tissue oedema, joint dislocation, sprains)</i>         |
| Траумель® С, раствор для внутримышечного и околосуставного введения гомеопатический (Биологише Хайльмитель Хеель ГмбХ)<br><i>Traumeel® C, homeopathic solution for intramuscular and periarticular administration (Biologische Heilmittel Heel GmbH)</i> | Hamamelis virginiana D1, Arnica montana D2, Calendula officinalis D2, Achillea millefolium D3, Atropa bella-donna D2, Aconitum napellus D2, Mercurius solubilis Hahnemanni D6, Hepar sulfuris D6, Chamomilla recutita D3, Symphytum officinale D6, Bellis D2, Echinacea D2, Echinacea purpurea D2, Hypericum perforatum D2              | Комплексная терапия при вывихах, растяжениях, переломах костей, отеках мягких тканей после операции и травм, воспалительных процессах различных органов и тканей, особенно опорно-двигательного аппарата (тендовагинит, бурсит, стилоидит, эпикондиллит, периартрит), артрозах<br><i>Part of combination therapy for dislocations, sprains, bone fractures, post-operative and post-traumatic soft tissue oedemas, inflammatory processes in different organs and tissues, especially in musculoskeletal disorders (tendovaginitis, bursitis, styloiditis, epicondylitis, periarthritis), arthroses</i> |

на основе гаммелиса виргинского имеют более широкий диапазон показаний к применению, в том числе нарушение венозного кровообращения<sup>4</sup>, различные травмы, ожоги и воспалительные заболевания, в частности, воспаление яичка, вен семенного канатика<sup>5</sup> и придатка яичка, невралгия яичек, невралгия и воспаление яичников, дисменорея у женщин [7, 8].

Для получения гомеопатических лекарственных препаратов в качестве фармацевтических субстанций используются настойки гомеопатические матричные (НГМ), получаемые из двух видов лекарственного растительного сырья: листьев высушенных и коры корней или ветвей свежей (или их смеси) гаммелиса виргинского — *Hamamelis virginiana* L., сем. гаммелисовых — *Hamamelidaceae*. Данные виды сырья содержат биологически активные вещества, относящиеся к различным группам<sup>6</sup>. Кора содержит 8–12% дубильных веществ гидролизующей

группы: гаммелитанин 1–7%, моногаллоил-гаммелозу, галловую кислоту; флавоноиды: кверцетин; углеводы: полисахариды, состоящие, в основном, из арабанов и арабиногалактанов; сапонины; проантоцианидины: димерные процианидины и продельфинидины; 0,1% эфирного масла. Листья содержат 3–10% дубильных веществ: гаммелитанин; флавоноиды 1,9%: кверцетин, кверцетин-3-О-β-D-глюкуронид, кемпферол, кемпферол-3-О-β-D-глюкуронид, изокверцитрин, трифоллин, гиперин; фенолкарбоновые кислоты и их производные: кофейная, хлорогеновая и галловая; антоцианы: цианидин, дельфинидин; олигомерные проантоцианидины; катехины: катехин, галлокатехин, эпикатехин галлат, эпигаллокатехин галлат; эфирное масло 0,01–0,5 %, в его составе: алифатические спирты 40%, алифатические эфиры 15%, ацетальдегид 3,2%, N-гексена-2-аль 9,7%, α- и β-иононы 4,5%, сафрол до 0,2%, гексен-2-ол, гексенол, сесквитерпены. Химический состав сырья для НГМ

<sup>4</sup> Янсонс Л. Гаммелис. Состав и применение препарата в гомеопатии. <https://www.gomeo-patiya.ru/lekarstva/120/gomeopatiya-hamamelis-virginica-pokazaniya-instrukciya-k-primeneniyu.html>

<sup>5</sup> Гаммелис виргиниана (Hamamelis). Гомеопатические монопрепараты. [https://www.doctor-n.ru/homeopat/prepar/list\\_one\\_component.shtml?number=69](https://www.doctor-n.ru/homeopat/prepar/list_one_component.shtml?number=69)

<sup>6</sup> Committee on herbal medicinal products (HMPC) assessment report on *Hamamelis virginiana* L., cortex; *Hamamelis virginiana* L., folium; *Hamamelis virginiana* L., folium et cortex aut ramunculus destillatum; 2009. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/assessment-report-hamamelis-virginiana-l-cortex-hamamelis-virginiana-l-folium-hamamelis-virginiana-l\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/assessment-report-hamamelis-virginiana-l-cortex-hamamelis-virginiana-l-folium-hamamelis-virginiana-l_en.pdf)

имеет некоторые отличия: кора содержит сесквитерпеноиды и фенилпропаноиды в большей концентрации, чем листья, которые содержат большее количество монотерпеноидов; вид дубильных веществ также различается — листья содержат в основном конденсированные дубильные вещества, а кора богаче гидролизующимися дубильными веществами [9–16].

В мировой практике в качестве фармацевтических субстанций гаммелиса виргинского используются два вида настоек гомеопатических, требования к которым приведены в монографии Гомеопатической фармакопеи Германии на НГМ, получаемую из свежей коры гаммелиса<sup>7</sup>, в монографии Фармакопеи Франции на НГМ, получаемую из высушенных листьев<sup>8</sup>, а также нормативных требованиях отечественных производителей.

В зависимости от используемой части / морфологической группы лекарственного растения и его физического состояния (высушенного/свежего) для получения настоек применяются различные технологические способы, которые описаны в ОФС.1.6.2.008.18 «Настойки гомеопатические матричные» Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ), что отражается на качественном и количественном составе настоек. Это обстоятельство необходимо учитывать при оценке качества гомеопатических лекарственных препаратов, получаемых на основе данных фармацевтических субстанций.

Анализ нормативной документации на гомеопатические лекарственные препараты на основе гаммелиса виргинского в различных лекарственных формах показал, что существующая оценка качества требует унификации методик по таким показателям, как «Подлинность», «Количественное определение».

Цель работы — определение подходов к оценке показателей «Подлинность» и «Количественное определение» в настойках гомеопатических матричных из листьев и коры гаммелиса виргинского и лекарственных препаратах на их основе.

В задачи исследования входили: на основании обзора данных литературы и нормативной документации подбор оптимальных условий определения дубильных веществ и флавоноидов

в лекарственных средствах на основе гаммелиса виргинского, а также анализ особенностей проведения качественного и количественного определения лекарственных препаратов, получаемых на основе двух видов настоек гомеопатических матричных гаммелиса виргинского.

## Материалы и методы

При анализе данных литературы использовали монографию Гомеопатической фармакопеи Германии (ГФГ) на НГМ, получаемую из свежей коры гаммелиса<sup>9</sup>, монографию Фармакопеи Франции на НГМ, получаемую из высушенных листьев<sup>10</sup>, а также нормативную документацию отечественных производителей.

Образцы лекарственных средств: Гаммелис виргиниана е фолис (Гаммелис, Фолиум) (4), настойка гомеопатическая матричная, ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика»; Гаммелис, фолиум (4) D1, мазь гомеопатическая, ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика».

Апробацию выбранных методик проводили методами тонкослойной хроматографии (ТСХ), титриметрии и УФ-спектрофотометрии, а также качественного химического анализа. Для исследования использовали пластины ТСХ со слоем силикагеля 60, F<sub>254</sub>, на пластике (Merck), спектрофотометр Cary-100; в качестве стандартных образцов: кверцетин (Carl Roth, кат. № 2629), галловая кислота (кат. № 149-91-7, Sigma-Aldrich); реактивы квалификации не ниже «чистый для анализа» («ч.д.а.»): хлористоводородную кислоту концентрированную, цинка порошок, железа(III) хлорида раствор 3%.

## Результаты и обсуждение

Для получения НГМ «Гаммелис виргиниана е фолис (Гаммелис, Фолиум) — Hamamelis virginiana e foliis (Hamamelis, Folium)» из высушенных листьев используется, согласно ГФ РФ, способ 4 со спиртом 62 % (м/м)<sup>11</sup>, а для получения НГМ «Гаммелис виргиниана (Гаммелис) — Hamamelis virginiana (Hamamelis)», получаемой из свежей коры, — способ 3 со спиртом 86,0 % (м/м)<sup>12</sup>. Различия в исходном сырье и способах получения отражаются на показателях качества НГМ.

При подготовке проекта общей фармакопейной статьи (ОФС) на НГМ из высушенных

<sup>7</sup> Homöopathisches Arzneibuch. Frankfurt: Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart Govi-Verlag GmbH; 2000.

<sup>8</sup> Witch hazel. For homoeopathic preparations. French Pharmacopoeia. January 2017.

<sup>9</sup> Homöopathisches Arzneibuch. Frankfurt: Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart Govi-Verlag GmbH; 2000.

<sup>10</sup> Witch hazel. For homoeopathic preparations. French Pharmacopoeia. January 2017.

<sup>11</sup> ОФС.1.6.2.008.18. Настойки гомеопатические матричные. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

<sup>12</sup> Там же.

листьев была использована и апробирована методика, разработанная ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика». Способ получения и качество НГМ из свежей коры гамамелиса виргинского, используемой отечественными производителями, соответствует требованиям Гомеопатической фармакопеи Германии, в связи с этим за основу проекта фармакопейной статьи (ФС) для ГФ РФ взята монография ГФГ «*Hamamelis virginiana* (Hamamelis)»<sup>13</sup>. Поскольку основными действующими веществами гамамелиса являются дубильные вещества и флавоноиды, стандартизация настоек по показателю «Подлинность» основывается на обнаружении соединений этих классов с помощью методов ТСХ, УФ-спектрофотометрии, а также качественными реакциями. Количественное определение суммы дубильных веществ в пересчете на танин проводится титриметрическим методом в соответствии с ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (табл. 2).

Активными компонентами гомеопатических лекарственных препаратов гамамелиса виргинского являются гомеопатические разведения гомеопатических фармацевтических субстанций — настоек гомеопатических матричных из двух видов сырья. Таким образом, показатели качества препаратов для различных лекарственных форм (мази, суппозитории, капли) должны быть согласованы с требованиями на соответствующие НГМ. В связи с этим был предложен подход к оценке качества препаратов с учетом степени разведения используемых гомеопатических фармацевтических субстанций (настоек гомеопатических матричных Гамамелиса) и лекарственной формы: или по активному компоненту, или по вспомогательным веществам.

Подлинность гомеопатических лекарственных препаратов с активным компонентом в сотенных разведениях, например «Гамамелис виргиниана С6, оподельдок гомеопатический», может быть установлена только по вспомогательным веществам, входящим в основу лекарственной формы: качественные реакции на калий, жирные кислоты и спирт этиловый. Другим примером может служить гомеопатический лекарственный препарат «Гамамелис виргиниана D3, гранулы гомеопатические». Технология приготовления данного препарата в соответствии с ОФС.1.6.2.002.18 «Гранулы гомеопатические» предусматривает нанесение 1 г разведения D3 на 100 г ядер гранул, в 100 г препарата содержится  $1 \times 10^{-3}$  г НГМ.

Для получения испытуемого раствора требуется не менее 1 кг гранул. Таким образом, в связи с трудностью выделения биологически активных веществ из данного препарата подлинность подтверждается также только по вспомогательному компоненту — сахарозе, составляющему основу гранул гомеопатических. Однако то же разведение активного компонента — D3 в другой лекарственной форме «Капли гомеопатические» позволяет подтверждать подлинность по действующим веществам, содержащимся в НГМ (табл. 2). Необходимым условием проведения анализа является предварительное концентрирование; для анализа достаточно 100 мл препарата. Это обстоятельство позволило использовать ТСХ-методику определения подлинности, приведенную для НГМ (с учетом пробоподготовки), для включения в проект ОФС «Гамамелис D3, капли гомеопатические».

Для оценки подлинности и/или количественного определения в других лекарственных формах необходимо осуществить отделение вспомогательных веществ и концентрирование полученного извлечения активного компонента. Для мазей и суппозиторий основным способом пробоподготовки является экстрагирование биологически активных веществ гамамелиса этиловым спиртом в сочетании с последующим концентрированием. Примером могут служить методики установления подлинности и количественного определения в лекарственном препарате «Гамамелис, фолиум (4) D1, мазь гомеопатическая», соответствующие методики, приведенным для гомеопатической субстанции — настойки гомеопатической матричной «Гамамелис виргиниана е фолиис (Гамамелис, Фолиум) — *Hamamelis virginiana* e foliis (Hamamelis, Folium)» (табл. 2).

По результатам исследования данных литературы были определены оптимальные условия, позволяющие выполнять оценку по показателям «Подлинность» и «Количественное определение» мази гомеопатической «Гамамелис, фолиум (4) D1». Методики были включены в проект ФС для данного препарата в следующей редакции.

### Подлинность

Около 20 г препарата помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 20 мл спирта 70%, нагревают на водяной бане до расплавления основы и продолжают нагревать еще в течение 15 мин. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный спиртом 70%, в мерную колбу вместимостью 50 мл.

<sup>13</sup> Homöopathisches Arzneibuch. Frankfurt: Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart Govi-Verlag GmbH; 2000.

Таблица 2. Показатели качества настоек гомеопатических матричных на основе гамамелиса виргинского

Table 2. Quality attributes of Hamamelis virginiana-based homoeopathic mother tinctures

| Показатель<br><i>Quality attribute</i>     | Методика оценки и нормы по показателю<br><i>Analytical procedures and limits</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                            | Проект ФС «Гамамелис виргиниана е<br>фолиис (Гамамелис, Фолиум) — Hamamelis<br>virginiana e foliis (Hamamelis, Folium)»<br><i>Draft monograph "Hamamelis virginiana e<br/>foliis (Hamamelis, Folium)"</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Проект ФС «Гамамелис виргиниана (Гамамелис) —<br>Hamamelis virginiana (Hamamelis)»<br><i>Draft monograph Hamamelis virginiana (Hamamelis)</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Подлинность<br><i>Identification</i>       | <p><b>Тонкослойная хроматография</b><br/>Стандартные образцы: галловая кислота, кверцетин.<br/>Подвижная фаза: толуол — этилацетат — муравьиная кислота безводная (50:40:10).<br/>Обнаружение зон: в УФ-свете при 254 нм.<br/>Норма: две темные зоны адсорбции, соответствующие зонам адсорбции СО галловой кислоты и СО кверцетина; допускается наличие других темных зон адсорбции.<br/><b>УФ-спектрофотометрия</b><br/>Максимум при (276 ± 5) нм и плечо в области от 355 до 365 нм.<br/><b>Качественные реакции</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>с железа(III) хлорида раствором 3% — черное окрашивание (дубильные вещества);</li> <li>с хлористоводородной кислотой концентрированной и порошком цинка — красное окрашивание (флавоноиды)</li> </ul> <p><b>Thin-layer chromatography</b><br/>Reference standards: gallic acid, quercetin.<br/>Mobile phase: toluene — ethyl acetate — anhydrous formic acid (50:40:10)<br/>Detection: UV at 254 nm.<br/>Results: the chromatogram obtained with the test solution shows two dark adsorption zones similar in position to the gallic acid RS and quercetin RS adsorption zones; other dark adsorption zones may also be present.<br/><b>UV spectrophotometry</b><br/>UV spectrum of the homoeopathic mother tincture solution with a maximum at (276 ± 5) nm and a shoulder peak between 355 and 365 nm.<br/><b>Identification reactions</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a reaction with 3% iron(III) chloride produces a black colour (tannins).</li> <li>a reaction with concentrated hydrochloric acid and zinc powder produces a red colour (flavonoids)</li> </ul> | <p><b>Тонкослойная хроматография</b><br/>Стандартные образцы: рутин, арбутин, галловая кислота, танин.<br/>Подвижная фаза: муравьиная кислота безводная — вода — этилацетат (10:10:80).<br/>Обнаружение зон:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>в УФ-свете при 254 нм;</li> <li>дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1% в спирте 96%, затем макрогола 400 раствором спиртовым 5%; в УФ-свете при 365 нм.</li> </ul> <p>Норма: две слабовыраженные зоны адсорбции фиолетового цвета, соответствующие зонам адсорбции СО рутина; интенсивная зона адсорбции фиолетового цвета между зонами адсорбции СО рутина и СО арбутина; слабовыраженная зона адсорбции фиолетового цвета чуть выше зоны адсорбции СО арбутина; три плохо разделенные зоны адсорбции фиолетового цвета, чуть ниже, на уровне и чуть выше зоны адсорбции СО танина; по одной зоне адсорбции серо-коричневого или фиолетового цвета на уровне и чуть выше зоны адсорбции СО галловой кислоты; допускается присутствие других зон адсорбции.<br/>Качественные реакции</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>с раствором диметиламинобензальдегида в серной кислоте — темное красновато-коричневое окрашивание;</li> <li>с железа(III) аммония сульфата раствором — сине-фиолетовое окрашивание</li> </ul> <p><b>Thin-layer chromatography</b><br/>Reference standards: rutin, arbutin, gallic acid, tannin.<br/>Mobile phase: anhydrous formic acid — water — ethyl acetate (10:10:80).<br/>Detection:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>UV at 254 nm;</li> <li>1% diphenylborinic acid aminoethyl ester in 96% alcohol followed by macrogol 400 in 5% alcohol; UV at 365 nm.</li> </ul> <p>Results: the chromatogram obtained with the tincture shows two weak violet-coloured adsorption zones close in position to the rutin RS adsorption zone; an intensive violet adsorption zone between rutin RS and arbutin RS adsorption zones; a weak violet-coloured adsorption zone slightly above the arbutin RS adsorption zone; three barely separated violet adsorption zones located close to one another in positions slightly below, slightly above and at the same level as the tannin RS adsorption zone; two greyish-brown or violet adsorption zones in the same position as and slightly above the gallic acid RS adsorption zone; other adsorption zones may also be present.<br/><b>Identification reactions</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a reaction with dimethylaminobenzaldehyde in sulfuric acid produces a dark reddish-brown colour.</li> <li>a reaction with ammonium iron(III) sulfate produces a blue-violet colour</li> </ul> |
| Сухой остаток<br><i>Dry residue</i>        | ≥1,5 %                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | ≥3,5 %                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Плотность<br><i>Density</i>                | 0,890–0,910 г/см <sup>3</sup> (g/cm <sup>3</sup> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 0,905–0,925 г/см <sup>3</sup> (g/cm <sup>3</sup> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Количественное определение<br><i>Assay</i> | Сумма дубильных веществ в настойке ≥1,0 %<br><i>Total tannins in the tincture ≥1.0%</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Сумма дубильных веществ в настойке ≥3,0 %<br><i>Total tannins in the tincture ≥3.0%</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |



Извлечение повторяют еще 2 раза спиртом 70% порциями по 15 мл и фильтруют полученные извлечения в ту же колбу. Объем раствора в колбе доводят спиртом 70% до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

### Тонкослойная хроматография

**Раствор стандартных образцов (СО).** По 25 мг СО галловой кислоты и СО кверцетина растворяют в 50 мл спирта 70%.

4 мл испытуемого раствора помещают в фарфоровую чашку и выпаривают на водяной бане до объема около 2 мл при температуре не выше 70 °С (испытуемый раствор А).

На линию старта ТСХ со слоем силикагеля  $F_{254}$  наносят отдельно полосами длиной не более 10 мм и шириной не более 2 мм 100 мкл испытуемого раствора А, 10 мкл раствора СО галловой кислоты и 10 мкл раствора СО кверцетина. Пластику с нанесенными пробами помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей «толуол — этилацетат — муравьиная кислота безводная» (50:40:10), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80–90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете при 254 нм.

На хроматограмме раствора СО должны обнаруживаться: в нижней трети темная зона адсорбции СО галловой кислоты, в средней трети темная зона адсорбции СО кверцетина.

На хроматограмме испытуемого раствора А должны обнаруживаться две темные зоны ад-

сорбции на уровне зон адсорбции СО галловой кислоты и СО кверцетина; допускается обнаружение других темных зон адсорбции.

### УФ-спектрофотометрия

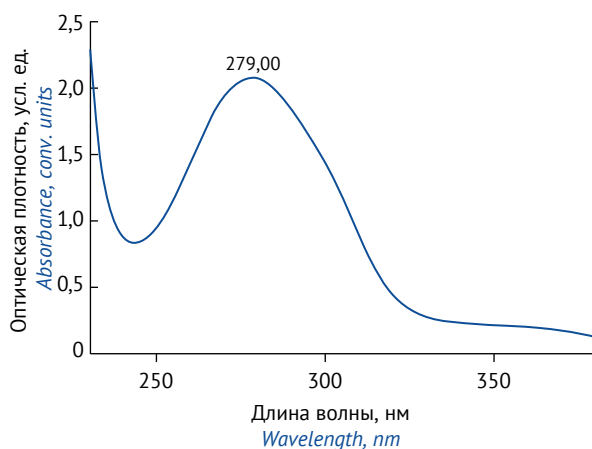
Регистрируют УФ-спектр испытуемого раствора относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют спирт 70%.

УФ-спектр испытуемого раствора в области длин волн от 230 до 380 нм должен иметь максимум при  $(276 \pm 2)$  нм.

Данные, полученные в результате апробации методик оценки качества, приведенных в проекте ФС на исходную гомеопатическую субстанцию с учетом пробоподготовки для данной лекарственной формы, согласуются с ожидаемыми по данным методикам (рис. 1, 2), что подтверждает возможность и целесообразность использования предложенных подходов к оценке качества гомеопатических лекарственных средств.

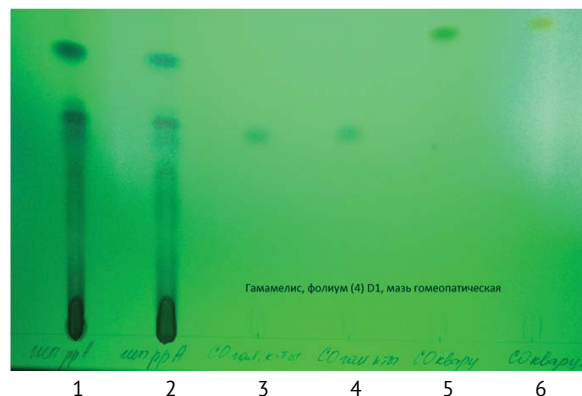
Методика оценки качества по показателю «Количественное определение» также соответствует требованиям ФС на НГМ из высушенного сырья. Норма содержания суммы дубильных веществ в пересчете на танин в препарате установлена с учетом содержания в НГМ — не менее 0,08%. Апробация аналитической методики, включенной в проект ФС, продемонстрировала воспроизводимость методики, а полученные результаты (0,092%) подтвердили правильность установленной нормы.

Аналогичный подход был использован при оценке качества мази гомеопатической, полученной на основе НГМ из коры свежей «Гамамелис виргиниана (Гамамелис) — *Hamamelis virginiana*



**Рис. 1.** УФ-спектр. Гамамелис, фоллиум (4) D1, мазь гомеопатическая

**Fig. 1.** UV spectrum. *Hamamelis, folium* (4) D1, homoeopathic ointment



**Рис. 2.** Хроматограмма раствора препарата. Гамамелис, фоллиум (4) D1, мазь гомеопатическая: 1, 2 — испытуемый раствор; 3, 4 — стандартный образец галловой кислоты; 5, 6 — стандартный образец кверцетина

**Fig. 2.** TLC. *Hamamelis, folium* (4) D1, homoeopathic ointment: 1, 2 — test solution; 3, 4 — gallic acid RS, 5, 6 — quercetin RS



(Hamamelis)». В составе мази в качестве активного компонента используется гомеопатическое разведение D1, что позволяет определять подлинность и количественное определение по методикам, приведенным для НГМ. Для проведения испытания методом ТСХ испытуемый раствор готовят следующим образом: «10 г препарата помещают в колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл спирта 70%, нагревают на водяной бане до расплавления основы. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный спиртом 70%, в мерную колбу вместимостью 25 мл. Извлечение повторяют 2 раза спиртом 70% порциями по 5 мл и фильтруют в ту же колбу. 10 мл полученного раствора помещают в фарфоровую чашку и выпаривают на водяной бане до объема около 1 мл при температуре не выше 70 °С». Требования к испытанию методом ТСХ аналогичны приведенным на фармацевтическую субстанцию (табл. 2). Норма содержания дубильных веществ (не менее 0,03%) и методика проведения испытания мази также согласованы с таковыми, приведенными для контроля качества НГМ.

## Выводы

1. Определены оптимальные условия и подобраны методики анализа по показателям «Под-

линность» и «Количественное определение» в фармацевтических субстанциях и гомеопатических лекарственных препаратах.

2. Подготовлены проекты фармакопейных статей «Гамамелис виргиниана е фолиис (Гамамелис, Фолиум) – *Hamamelis virginiana* e foliis (Hamamelis, Folium) настойка гомеопатическая матричная», «Гамамелис виргиниана (Гамамелис) – *Hamamelis virginiana* (Hamamelis) настойка гомеопатическая матричная».

3. Унифицированные методики включены в проекты фармакопейных статей на гомеопатические лекарственные препараты «Гамамелис D3, капли гомеопатические», «Гамамелис D1, мазь гомеопатическая», «Гамамелис, фолиум D1, мазь гомеопатическая». Подобранные методики отвечают требованиям сквозной стандартизации и позволяют устанавливать подлинность и проводить количественное определение в ряду от фармацевтических субстанций до гомеопатических лекарственных препаратов на их основе по одним группам биологически активных веществ. Предложена методология оценки качества гомеопатических лекарственных препаратов с учетом степени разведения используемых гомеопатических фармацевтических субстанций.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Hamamelis. In: Clarke JH. *A Dictionary of Practical Materia Medica*. London: Homoeopathic Pub. Co.; 1902.
2. Theisen LL, Erdelmeier CAJ, Spoden GA, Boukhalouk F, Sausy A, Florin L, et al. Tannins from *Hamamelis virginiana* bark extract: characterization and improvement of the antiviral efficacy against influenza A virus and human papillomavirus. *PLoS One*. 2014;9(1):e88062. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088062>
3. Sanchez-Tena S, Fernandez-Cachon ML, Carreras A, Mateos-Martin ML, Costoya N, Moyer MP, et al. Hamamelitannin from witch hazel (*Hamamelis virginiana*) displays specific cytotoxic activity against colon cancer cells. *J Nat Prod*. 2012;75(1):26–33. <https://doi.org/10.1021/np200426k>
4. Mansoor K, Qadan F, Schmidt M. *Hamamelis virginiana* L. Leaf extract suppositories in the treatment of hemorrhoids: non-interventional trial and stability study. *Pharmazie*. 2018;73(4):237–40.
5. Qinna NA. Safety profile of suppository *Hamamelis virginiana* leaf extract. *J Med Plants Res*. 2013;7(36):2669–79.
6. MacKay D. Hemorrhoids and varicose veins: a review of treatment options. *Altern Med Rev*. 2001;6(2):126–40. PMID: 11302778
7. Шаретт Ж. *Практическое гомеопатическое лекарствоведение*. 2-е изд. М.; 1934. [Charette J. *Practical homeopathic medicine*. 2<sup>nd</sup> ed. Moscow; 1934 (In Russ.)]
8. Корокин МВ, Корвякова ОА, Олейник АЕ, Недобега ЕИ, Покровский МВ, Королев АЕ. Противовоспалительная активность гомеопатических гелей на основе гамамелиса. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2010;(3–4):95–8. [Korokin MV, Korvyakova OA, Oleynik AE, Nedobega EI, Pokrovsky MV, Korolev AE. Anti-inflammatory activity of homeopathic gels on a basis of Hamamelis. *Kubanskiy nauchny meditsinskiy vestnik = Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2010;(3–4):95–8 (In Russ.)]
9. Патудин АВ, Терёшина НС, Мищенко ВС, Ильенко ЛИ. *Биологически активные вещества гомеопатического лекарственного сырья* М.: Знак; 2009 [Patudin AV, Tereshina NS, Mishchenko VS, Ilyenko LI. *Biologically active substances of homeopathic medicinal raw materials*. Moscow: Znak; 2009 (In Russ.)]
10. Dauer A, Rimpler H, Hensel A. Polymeric proanthocyanidins from the bark of *Hamamelis virginiana*. *Planta Med*. 2003;69(1):89–91. <https://doi.org/10.1055/s-2003-37022>
11. Duckstein SM, Stintzing FC. Investigation on the phenolic constituents in *Hamamelis virginiana* leaves by HPLC-DAD and LC-MS/MS. *Anal Bioanal Chem*. 2011;401(2):677–88. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5111-3>
12. Hartisch C, Kolodziej H. Galloylhamamelosides and proanthocyanidins from *Hamamelis*

- virginiana*. *Phytochemistry*. 1996;42(1):191–8. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00926-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00926-0)
13. Masaki H, Atsumi T, Sakurai H. Protective activity of hamamelitannin on cell damage of murine skin fibroblasts induced by UVB irradiation. *J Dermatol Sci*. 1995;10(1):25–34. [https://doi.org/10.1016/0923-1811\(95\)93711-9](https://doi.org/10.1016/0923-1811(95)93711-9)
  14. Deters A, Dauer A, Schnetz E, Fartasch M, Hensel A. High molecular compounds (polysaccharides and proanthocyanidins) from *Hamamelis virginiana* bark: influence on human skin keratinocyte proliferation and differentiation and influence on irritated skin. *Phytochemistry*. 2001;58(6):949–58. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00361-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00361-2)
  15. Vennat B, Pourrat H, Pouget MP, Gross D, Pourrat A. Tannins from *Hamamelis virginiana*: identification of proanthocyanidins and hamamelitannin quantification in leaf, bark, and stem extracts. *Planta Med*. 1988;54(5):454–7. <https://doi.org/10.1055/s-2006-962499>
  16. Bruneton J. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. 2nd ed. Paris: Lavoisier; 2008.

**Вклад авторов.** Н.С. Терёшина — обобщение данных литературы; анализ и систематизация данных; оформление рукописи; М.Н. Лякина — подготовка и редактирование текста рукописи; О.А. Наумова — сбор данных литературы.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-22-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Authors' contributions.** Natalia S. Teryoshina — consolidation, analysis and systematisation of literature data; formatting of the manuscript; Marina N. Lyakina — preparation and editing of the text of the manuscript; Olga A. Naumova — collection of literature data.

**Acknowledgements.** The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00001-22-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Терёшина Наталья Сергеевна**, д-р фарм. наук, старший научный сотрудник

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8421-197X>  
[tereshina@expmed.ru](mailto:tereshina@expmed.ru)

**Лякина Марина Николаевна**, д-р фарм. наук, старший научный сотрудник

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8220-1054>  
[Ljakina@expmed.ru](mailto:Ljakina@expmed.ru)

**Наумова Ольга Анатольевна**, канд. фарм. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1289-4307>  
[naumovaoa@expmed.ru](mailto:naumovaoa@expmed.ru)

**Natalia S. Teryoshina**, Dr. Sci. (Pharm.), Senior Research Associate

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8421-197X>  
[tereshina@expmed.ru](mailto:tereshina@expmed.ru)

**Marina N. Lyakina**, Dr. Sci. (Pharm.), Senior Research Associate

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8220-1054>  
[Ljakina@expmed.ru](mailto:Ljakina@expmed.ru)

**Olga A. Naumova**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1289-4307>  
[naumovaoa@expmed.ru](mailto:naumovaoa@expmed.ru)

Поступила 28.09.2021

После доработки 11.05.2022

Принята к публикации 07.06.2022

Online first 30.06.2022

Received 28 September 2021

Revised 11 May 2022

Accepted 07 June 2022

Online first 30.06.2022



Т.К. Рязанова   
В.А. Куркин  

## Актуальные вопросы стандартизации лекарственного растительного сырья и фармацевтических субстанций растительного происхождения, содержащих эфирные масла

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Чапаевская ул., д. 89, Самара, 443099, Российская Федерация*

✉ Куркин Владимир Александрович; [v.a.kurkin@samsmu.ru](mailto:v.a.kurkin@samsmu.ru)

### РЕЗЮМЕ

Эфирные масла являются распространенной группой биологически активных соединений, и вопросы их стандартизации по-прежнему актуальны.

**Цель работы:** сравнение фармакопейных подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и фармацевтических субстанций растительного происхождения, содержащих эфирные масла, на примере Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ) и Европейской фармакопеи 10 изд.

К достоинствам подходов, применяемых в ГФ РФ, можно отнести определение дополнительных групп биологически активных соединений, вносящих существенный вклад в фармакотерапевтическое действие экстракционных препаратов. Основным фармакопейным методом анализа компонентного состава эфирных масел является газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором, одним из ограничений которой является необходимость применения значительного количества стандартных образцов. Обнаружены различия в пороговых значениях содержания эфирного масла согласно требованиям разных фармакопей для одних и тех же видов сырья, которые могут быть связаны с различиями пробоподготовки и процедур определения содержания эфирного масла, а также с условиями произрастания растений, использованных для получения выборки растительного сырья при нормировании этого показателя. В связи с возможностью существования нескольких хемотипов растения в зависимости от компонентного состава эфирного масла для одного и того же вида сырья представляется актуальным изучение фармакологической активности, ассоциируемой с эфирными маслами, в зависимости от их компонентного состава.

**Ключевые слова:** Государственная фармакопея Российской Федерации; Европейская фармакопея; лекарственное растительное сырье; фармацевтические субстанции растительного происхождения; эфирные масла; стандартизация; стандартные образцы; газовая хроматография

**Для цитирования:** Рязанова Т.К., Куркин В.А. Актуальные вопросы стандартизации лекарственного растительного сырья и фармацевтических субстанций растительного происхождения, содержащих эфирные масла. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2023;13(2):146–153. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-495>

T.K. Ryazanova   
V.A. Kurkin  

## Relevant Issues of Standardisation of Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations Containing Essential Oils

Samara State Medical University,  
89 Chapaevskaya St., Samara 443099, Russian Federation

✉ Vladimir A. Kurkin; [v.a.kurkin@samsmu.ru](mailto:v.a.kurkin@samsmu.ru)

### ABSTRACT

Essential oils are a common group of bioactive compounds, yet their standardisation remains relevant.

**The aim of the study** was to compare pharmacopoeial approaches to the standardisation of herbal drugs and herbal drug preparations containing essential oils using the examples of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (14th edition) and the European Pharmacopoeia (10th edition).

The advantages of Russian pharmacopoeial approaches include testing for additional groups of bioactive compounds that contribute significantly to the pharmacotherapeutic effect of extractive preparations. The main compendial method for the component analysis of essential oils is gas chromatography with a flame ionisation detector; its limitations include the need for a considerable number of reference standards. The essential oil content limits established by the two pharmacopoeias for the same types of herbal drugs are not the same. The differences may be associated with differences in sample preparation conditions and analytical procedures for the determination of essential oil content, as well as with growth conditions of plants used to obtain data sets for the standardisation of this quality attribute. As a particular medicinal plant may have several chemotypes differing in the essential oil composition, it seems relevant to consider this composition in the studies of pharmacological activity of herbal drugs associated with essential oils.

**Key words:** State Pharmacopoeia of the Russian Federation; European Pharmacopoeia; herbal drugs; herbal drug preparations; essential oils; standardisation; reference standards; gas chromatography

**For citation:** Ryazanova T.K., Kurkin V.A. Relevant issues of standardisation of herbal drugs and herbal drug preparations containing essential oils. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):146–153. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-495>

### Введение

Эфирные масла являются распространенной группой биологически активных соединений (БАС) и широко используются в пищевой, парфюмерно-косметической и фармацевтической промышленности. В общей сложности из более 2000 видов растений выделено около 3000 эфирных масел, из которых примерно 300 представляют коммерческую ценность [1, 2].

Обычно эфирные масла накапливаются в масляных протоках, смоляных ходах, железах или трихомах (железистых волосках) растений [1, 3–5] и могут быть получены из сырья путем перегонки с водяным паром, гидродистилляцией или экстракцией растворителем [6]. Эфирные масла представляют собой сложные смеси низкомолекулярных (обычно менее 500 Да) соединений и могут содержать от 20 до 300 различных вторичных метаболитов растений, принадлежащих к различным химическим классам [2]. Основную часть эфирных масел составляют

терпеноиды и фенилпропаноиды, присутствует также небольшое количество ароматических и алифатических компонентов. Монотерпены, сесквитерпены и их оксигенированные производные составляют самую большую группу химических соединений в составе эфирных масел [2, 7]. В большинстве случаев биологическая активность конкретного эфирного масла определяется одним или двумя его основными компонентами [8].

В некоторых случаях общая активность не может быть отнесена ни к одному из основных компонентов, и присутствие комбинации молекул приводит к возникновению эффекта, отличного от эффекта отдельных соединений. Например, сообщается, что ингибирующая активность масла розмарина в отношении личинок насекомых является следствием синергетического действия нескольких химических компонентов, в то время как ни одно отдельное соединение не проявляет такой активности [9].

На химический состав эфирных масел оказывают влияние различные факторы, в том числе генетическая изменчивость, экотип или сорт растений, их питание, применение удобрений, место произрастания, окружающий климат, сезонные колебания, стресс во время роста или созревания, а также сушка и хранение после сбора урожая. Кроме того, тип используемого растительного материала (цветки, листья, стебли, корни и др.) и метод экстракции определяют выход и компонентный состав эфирного масла и тем самым его характерные биологические свойства [10, 11].

Натуральные продукты и их производные являются важными источниками БАС [2]. Исследователи во всем мире занимаются изучением биологических свойств эфирных масел, включая противомикробную, противовирусную, антимутагенную, противораковую, антиоксидантную, противовоспалительную, иммуномодулирующую и антипротозойную активность [8, 12].

В настоящее время лекарственные растения, стандартизируемые по содержанию эфирных масел, составляют 15–20% от общего количества фармакопейных растений<sup>1</sup>.

Для анализа эфирных масел используют различные подходы (физические, химические, физико-химические методы анализа, оценка органолептических свойств). Для оценки компонентного состава одним из основных инструментальных методов является газовая хроматография. К преимуществам метода можно отнести простоту, хорошую чувствительность метода, доступность широкого диапазона колонок и баз данных [13–15]. Традиционным количественным фармакопейным методом является газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектированием, в научных публикациях для качественного анализа компонентов эфирных масел в ряде случаев описано использование газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. В качестве альтернативных методов используют высокоэффективную жидкостную хроматографию, многомерную хроматографию, комбинацию газовой хроматографии с <sup>1</sup>H ЯМР и <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопией [14, 15].

Цель работы — анализ фармакопейных подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и фармацевтических

субстанций растительного происхождения, содержащих эфирные масла.

В работе использовали информационно-аналитический метод исследования. Материалами для исследования служили официальные документы, определяющие номенклатуру и требования к качеству лекарственных средств: Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ) и Европейская фармакопея 10.0 (Ph. Eur.).

В задачи исследования входил отбор фармакопейных статей ГФ РФ и Ph. Eur. на ЛРС, стандартизируемое по содержанию эфирного масла, анализ методик, используемых для оценки подлинности и количественного анализа БАС в отобранных видах ЛРС, и применяемых стандартных образцов (СО).

### Фармакопейные требования к анализу эфиромасличных лекарственных растений

В ГФ РФ представлено 20 наименований, в Ph. Eur. — 44 наименования ЛРС, анализируемых по содержанию эфирного масла, что составляет 19,0 и 25,0% от общего количества фармакопейных статей и монографий на ЛРС соответственно.

Для оценки подлинности эфиромасличного ЛРС используют анализ по внешним, микроскопическим признакам, методы тонкослойной и газовой хроматографии. Наиболее распространенными СО, используемыми при качественном анализе эфиромасличного ЛРС в соответствии с требованиями ГФ РФ, являются СО ментола, тимола, карвакрола, судана красного G, судана III, флуоресцеина, из которых три последних не встречаются в растительных объектах. Используется также вариант проведения тонкослойной хроматографии (ТСХ) без СО. Номенклатура СО, используемых при анализе ЛРС согласно требованиям Ph. Eur., более разнообразна и включает СО анетолла, бисаболола, борнеола, борнилацетата, цинеола, β-кариофиллена, эвгенола, ментола, тимола, карвакрола, остола, императорина, цитраля, линалоола, ментилацетата, фенхона и др. Сравнение подходов к стандартизации некоторых видов эфиромасличного лекарственного растительного сырья согласно ГФ РФ и Ph. Eur. представлено в виде *таблицы 1* (опубликована на сайте журнала<sup>2</sup>).

<sup>1</sup> Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.  
European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

<sup>2</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-495-tab11>



В Российской Федерации для определения содержания эфирного масла в ЛРС и лекарственных растительных препаратах (ЛРП) утверждены три метода, основанные на перегонке с водяным паром из сырья с последующим измерением объема: метод Гинзберга, метод Клевенджера и модифицированный метод Клевенджера<sup>3</sup>. Согласно требованиям Ph. Eur. применяют модифицированный метод Клевенджера с использованием ксилола вместо декалина<sup>4</sup>. Это различие, вероятно, обусловлено стремлением разработчиков монографий Ph. Eur. унифицировать разные подходы к определению содержания эфирных масел с использованием одной методики, наиболее подходящей как для стабильных масел, так и для масел, претерпевающих различные изменения.

Следует отметить существенное варьирование нижних пределов содержания эфирных масел в ЛРС: от 0,1% (багульника болотного побеги) до 3,0% (фенхеля обыкновенного плоды) согласно ГФ РФ и от 1 мл/кг (0,1%; лабазника вязолистного трава) до 150 мл/кг (15%; гвоздичного дерева цветки) согласно Ph. Eur. Существенный разброс значений связан с тем, что, помимо высокого содержания эфирного масла, значимым критерием при отнесении растительного сырья к фармакопейным видам является биологическая активность компонентов эфирных масел и наличие сопутствующих групп БАС, в том числе в тех случаях, когда содержание эфирного масла относительно невелико по сравнению с другими эфиромасличными растениями<sup>5</sup>.

При сравнении фармакопейных требований к ЛРС, включенных в обе фармакопеи, выявлено, что нижний предел содержания эфирного масла по ГФ РФ в большинстве случаев немного ниже, чем соответствующее значение согласно Ph. Eur., например для плодов аниса обыкновенного (15 и 20 мл/кг соответственно), можжевельника обыкновенного (5 и 10 мл/кг), тмина обыкновенного (20 и 30 мл/кг), фенхеля обыкновенного (30 и 40 мл/кг), листьев мяты перечной (10 и 12 мл/кг), эвкалипта прутовидного (10 и 20 мл/кг), что, вероятно, обусловлено различиями в условиях пробоподготовки, некоторыми отличиями в самой процедуре определения содержания эфирного масла, а также условиями произрастания растений, использованных для получения выборки растительного сырья при нормировании

данного показателя. Так, например, следует обратить внимание на существенное отличие норм для травы душицы обыкновенной. В соответствии с требованиями ГФ РФ содержание эфирного масла в траве душицы обыкновенной должно быть не менее 0,1%, а согласно требованиям Ph. Eur. — 25 мл/кг (2,5%).

Согласно ГФ РФ применение газовой хроматографии для оценки подлинности предусмотрено для трех из 20 видов ЛРС, стандартизируемых по содержанию эфирных масел (аниса обыкновенного, тмина обыкновенного и фенхеля обыкновенного плоды). Согласно Ph. Eur. методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием анализируют содержание суммы тимола и карвакрола в эфирном масле душицы обыкновенной (не менее 60% от суммарной площади всех компонентов на хроматограмме), тимьяна обыкновенного (не менее 40% суммы тимола и карвакрола), а также содержание анетолы, фенхона и эстрагола в плодах фенхеля обыкновенного и фенхеля сладкого (табл. 1, опубликована на сайте журнала)<sup>6</sup>.

Для видов *Origanum vulgare* L. и *Thymus vulgaris* L. известен широкий внутривидовой полиморфизм, который выражается морфологическими и некоторыми биохимическими различиями, а также компонентным составом эфирного масла. В зависимости от компонентного состава эфирного масла душицы обыкновенной выделяют различные хемотипы растения: хемотипы с высоким содержанием в эфирном масле ароматических соединений (тимола или карвакрола), хемотипы линалоольного типа (с высоким содержанием линалоола, терпинен-4-ола), хемотипы с преобладанием гермакрена D/(E)- $\beta$ -кариофиллена или  $\alpha$ -бисаболен и др. Для тимьяна обыкновенного выделяют хемотипы тимольного типа, хемотипы с преобладанием линалоола, гераниола и геранилацетата и др. [5, 13, 16–20]. Поскольку фармакологическое действие эфирных масел душицы обыкновенной и тимьяна обыкновенного связывают с наличием в составе ароматических соединений; по-видимому, этим было обосновано включение показателя «Содержание тимола и карвакрола» в монографии Ph. Eur. на данные виды ЛРС.

Следует отметить, что эфирные масла являются наиболее лабильной группой БАС, и в растительном сырье могут одновременно присутствовать

<sup>3</sup> ОФС.1.5.3.0010.15. Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

<sup>4</sup> 2.8.12. Essential oils in herbal drugs. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.

<sup>5</sup> Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. Самара: Офорт; 2020.

<sup>6</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-495-tab11>

другие группы действующих компонентов (флавоноиды, фенилпропаноиды, алкалоиды, полисахариды, сапонины)<sup>7</sup> [21]. Например, содержание флавоноидов согласно ГФ РФ нормируется в таких видах эфиромасличного ЛРС, как березы почки, чабреца трава, мяты перечной листья, полыни горькой трава, ромашки аптечной цветки и др. Содержание дубильных веществ нормируется в ЛРС ели обыкновенной шишки, шалфея лекарственного листья. В листьях эвкалипта прутовидного, кроме эфирного масла, нормируется содержание фенолальдегидов, определяющих антибактериальную активность ЛРС и ЛРП эвкалипта.

В Ph. Eur. можно выделить следующие категории эфиромасличных видов ЛРС:

- ЛРС, качественный и количественный анализ которого проводят только по эфирному маслу и его компонентам (амомума, аниса звездчатого плоды, атрактилодеса большеголового и ланцетовидного корневища и др.);
- ЛРС, количественный анализ которого проводят по содержанию эфирного масла, качественный анализ предусматривает использование СО других классов БАС (аниса обыкновенного плоды, зантоксилума Бунге перикарпий, померанца эпикарпий и мезокарпий, ромашки римской цветки);
- ЛРС, анализируемое по содержанию эфирного масла и фенилпропаноидов (алоизии трехлистной листья, мелиссы листья, розмарина лекарственного листья);
- ЛРС, анализируемое по содержанию эфирного масла и флавоноидов (ромашки аптечной цветки);
- ЛРС, анализируемое по содержанию эфирного масла и алкалоидов (болдо листья, магнолии Бионди бутоны, перца длинного и перца черного плоды);
- ЛРС, анализируемое по содержанию эфирного масла и других групп соединений (куркумы длинной и куркумы яванской корневища).

Для некоторых видов ЛРС, анализируемых согласно Ph. Eur. только по содержанию эфирного масла, в ГФ РФ предусмотрено определение содержания дополнительной группы БАС: суммы флавоноидов (душицы обыкновенной трава, тысячелистника обыкновенного трава, полыни горькой трава, мяты перечной листья), дубильных веществ (шалфея лекарственного листья). Введение в перечень нормируемых показателей качества дополнительной группы БАС, как правило, связано с тем, что при анализе ЛРС учиты-

вают его целевое назначение (экстракционные препараты) и БАС, наличием которых может быть обусловлено фармакологическое действие ЛРП.

В цветках ромашки аптечной в соответствии с требованиями ГФ РФ определяют содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, в то время как по требованиям Ph. Eur. нормируется содержание апигенина-7-глюкозида. На наш взгляд, в данном случае возможно определение суммарного содержания флавоноидов, но возникает вопрос о целесообразности использования рутина в качестве стандартного образца, так как по данным литературы в ЛРС и ЛРП ромашки аптечной преобладают апигенин, апигенин-7-О-глюкозид и их ацетилированные производные.

Следует обратить внимание, что согласно ГФ РФ в фармакопейную статью «Чабреца трава» не включен показатель «Эфирное масло», хотя тимьян ползучий является типичным эфиромасличным растением, и с компонентами эфирного масла связывают противовоспалительную, антибактериальную активность ЛРП на его основе.

### Фармакопейные требования к анализу эфирных масел

Кроме норм и требований к качеству ЛРС проанализированы фармакопейные подходы к анализу эфирных масел. В Ph. Eur. представлены 32 монографии на эфирные масла, в ГФ РФ — три фармакопейные статьи: терпентинное масло эфирное очищенное, мяты перечной листьев масло эфирное, эвкалипта листьев масло эфирное. Фармакопейный анализ эфирных масел в Европейском союзе предусматривает в совокупности использование более 80 стандартных образцов, из которых наиболее часто упоминаемыми в монографиях были лимонен (22 монографии на эфирные масла),  $\alpha$ -пинен и  $\beta$ -пинен (по 13 монографий). Сравнение норм и требований к качеству эфирных масел, указанных в ГФ РФ и Ph. Eur. по показателям качества, определяемым методом газовой хроматографии, представлено в *таблице 2* (опубликована на сайте журнала)<sup>8</sup>. Согласно ГФ РФ для количественной оценки эфирных масел рекомендованы к применению 14 стандартных образцов: 1,8-цинеол,  $\alpha$ -пинен,  $\alpha$ -фелландрен,  $\beta$ -пинен, изоментон, камфора, карвон, лимонен, ментилацетат, ментол, ментон, ментофуран, пулегон, сабинен.

Имеются некоторые различия в фармакопейных подходах к количественному анализу состава

<sup>7</sup> Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. Самара: Офорт; 2020.

<sup>8</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-495-tabl2>

эфирных масел. Согласно Ph. Eur. для оценки качества эфирных масел предусмотрено определение содержания нескольких компонентов, количество которых варьирует от 3 до 12 (в среднем 8–9 соединений). Согласно ГФ РФ в одном случае (терпентинное масло) нормируется нижний предел содержания только основного компонента —  $\alpha$ -пинена (не менее 60,0%), в то время как согласно Ph. Eur. нижний предел содержания  $\alpha$ -пинена составляет 70% и имеются требования к содержанию других компонентов ( $\beta$ -кариофиллен,  $\beta$ -мирцен,  $\beta$ -пинен, камфен, кар-3-ен, кариофиллена оксид, лимонен, лонгифолен). Для остальных эфирных масел, фармакопейные статьи на которые представлены в ГФ РФ, используемые стандарты, как правило, соответствуют указанным в Ph. Eur., за исключением незначительных различий в номенклатуре используемых СО и требованиях к компонентному составу масел (согласно Ph. Eur. для анализа эфирного масла мяты перечной используется СО изопулегона, не указанный в частной фармакопейной статье ГФ РФ, однако его содержание незначительно — не должно быть более 0,2%).

При подготовке новых редакций фармакопейных статей актуальной проблемой является выбор подходов к анализу эфирных масел на основании принципов рациональной достаточности и эффективности. Необходимо учитывать значимость каждого компонента, стандартный образец состава которого планируется включать в частные фармакопейные статьи на эфирные масла для контроля их качества по показателю «Количественное определение» с позиции вклада в биологическую активность, значимости для подтверждения подлинности субстанции и соблюдения условий хранения, токсикологических характеристик, возможных вариаций состава с учетом особенностей эфирных масел, получаемых из сырья, заготавливаемого на территории Российской Федерации. Альтернативой, на наш взгляд, может являться использование газовой хроматомасс-спектрометрии с количественным определением содержания 2–3 основных компонентов (с использованием СО) и качественным подтверждением наличия других значимых соединений.

### Заключение

Подходы, используемые при анализе ЛРС и ЛРП, содержащих эфирные масла в качестве одной из групп БАС, как в ГФ РФ, так и в Ph. Eur. имеют положительные и отрицательные стороны, и, на наш взгляд, при разработке проектов нормативной документации на сырье и препараты

следует учитывать национальный опыт стандартизации и опыт других стран с развитой системой фармакопейного анализа. В проанализированных нами фармакопеях не всегда очевидна методология выбора анализируемых групп БАС, условий анализа и стандартных образцов. Из преимуществ подхода Ph. Eur. можно отметить использование СО веществ, входящих в состав анализируемых объектов, учет хемотипа растения при выборе показателей качества и разработке требований. К положительным сторонам подхода, применяемого ГФ РФ, можно отнести определение дополнительных групп БАС (флавоноидов, фенолальдегидов и др.), вносящих существенный вклад в фармакотерапевтическое действие экстракционных препаратов. Основным фармакопейным методом анализа компонентного состава эфирных масел является газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектированием, одним из ограничений которой является необходимость обязательного применения СО различной номенклатуры. Использование газовой хроматографии с масс-селективным детектированием позволяет значительно упростить идентификацию соединений, однако без СО не позволяет получить представление о реальном количественном соотношении компонентов эфирных масел.

Выявленные различия в установленных пороговых значениях содержания эфирного масла для одних и тех же видов ЛРС согласно ГФ РФ и Ph. Eur. могут быть связаны с различиями в условиях пробоподготовки и методики определения содержания эфирного масла, а также условиями произрастания растений, использованных для получения выборки растительного сырья при нормировании данного показателя. На наш взгляд, не должно быть самоцелью стремление к унификации числовых показателей, однако дополнительное изучение вопроса для научного обоснования объективного критерия качества в каждом конкретном случае является целесообразным.

В связи с возможностью существования нескольких хемотипов растения в зависимости от компонентного состава эфирного масла представляется актуальным изучение фармакологической активности ЛРС, ассоциируемой с эфирными маслами, в зависимости от их компонентного состава. В этом случае газовая хроматография являлась бы необходимым инструментом для подтверждения качества и выявления особенностей конкретного ЛРС.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ткаченко КГ. Эфирномасличные растения и эфирные масла: достижения и перспективы, современные тенденции изучения и применения. *Вестник Удмуртского университета. Серия Биология. Науки о Земле*. 2011;(1):88–100.  
Tkachenko KG. Essential oils plants and essential oils: progress and perspectives, modern tendencies of research and application. *Bulletin of the Udmurt University. Biology & Earth Sciences*. 2011;(1):88–100 (In Russ.).
2. Raut J, Karuppaiyil SM. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind Crops Prod*. 2014;62:250–64.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.055>
3. Дмитриева ВЛ, Дмитриев ЛБ. Изучение состава эфирных масел эфиромасличных растений нечерноземной зоны России. *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2011;(3):106–19.  
Dmitrieva VL, Dmitriev LB. Study of the composition of essential oils of essential oil plants of the non-chernozem zone of Russia. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2011;(3):106–19 (In Russ.).
4. Werker E, Putievsky E, Ravid U. The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare* L. *Ann Bot*. 1985;55(6):793–801.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086958>
5. Hüsni K, Başer C, Demirci F. Chemistry of essential oils. In: Berger RG, ed. *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Berlin: Springer; 2007. P. 43–86.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-540-49339-6\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-540-49339-6_4)
6. Nakatsu T, Lupo AT, Chinn JW, Kang RKL. Biological activity of essential oils and their constituents. *Stud Nat Prod Chem*. 2000;21:571–631.  
[https://doi.org/10.1016/S1572-5995\(00\)80014-9](https://doi.org/10.1016/S1572-5995(00)80014-9)
7. Carson CF, Hammer KA. Chemistry and bioactivity of essential oils. In: Thormar H, ed. *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*. UK: John Wiley & Sons; 2011. P. 203–38.
8. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(2):446–75.  
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
9. Isman MB, Wilson JA, Bradbury R. Insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*) against larvae of *Pseudaletia unipuncta* and *Trichoplusia ni* in relation to their chemical compositions. *Pharmaceut Biol*. 2008;46(1–2):82–7.  
<https://doi.org/10.1080/13880200701734661>
10. Ashour ML, Wink M, Gershenzon J. Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes. In: Wink M, ed. *Annual Plant Reviews. Volume 40: Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*. 2nd ed. UK: John Wiley & Sons; 2010. P. 258–303.  
<https://doi.org/10.1002/9781444320503.ch5>
11. Hussain AI, Anwar F, Hussain Sherazi ST, Przybylski R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem*. 2008;108(3):986–95.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010>
12. Carson CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19(1):50–62.  
<https://doi.org/10.1128/CMR.19.1.50-62.2006>
13. Do T, Hadji-Minaglou F, Antonioti S, Fernandez X. Authenticity of essential oils. *TrAC Trends Anal Chem*. 2015;66:146–57.  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.10.007>
14. Oprean R, Tamas M, Sandulescu R, Roman L. Essential oils analysis. I. Evaluation of essential oils composition using both GC and MS fingerprints. *J Pharm Biomed Anal*. 1998;18(4–5):651–7.  
[https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(98\)00283-0](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(98)00283-0)
15. Smelcerovic A, Djordjevic A, Lazarevic J, Stojanovic G. Recent advances in analysis of essential oils. *Curr Anal Chem*. 2012;9(1):61–70.  
<https://doi.org/10.2174/1573411011309010061>
16. Mockute D, Bernotiene G, Judzentiene A. The essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* growing wild in Vilnius district (Lithuania). *Phytochemistry*. 2001;57(1):65–9.  
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00474-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00474-X)
17. Morshedloo MR, Salami SA, Nazeri V, Maggi F, Chacker L. Essential oil profile of oregano (*Origanum vulgare* L.) populations grown under similar soil and climate conditions. *Ind Crops Prod*. 2018;119:183–90.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.049>
18. Бойко ЕФ. Оценка качества растительного сырья *Origanum vulgare* L. *Сборник научных трудов Никитского ботанического сада*. 2011;133:28–40.  
Boyko E. Quality assessment of plant materials of *Origanum vulgare* L. *Proceedings of the Nikitsky Botanical Garden*. 2011;133:28–40 (In Russ.).
19. Galovičová L, Borotová P, Valková V, Vukovic NL, Vukic M, Terentjeva M, et al. *Thymus serpyllum* essential oil and its biological activity as a modern food preserver. *Plants*. 2021;10(7):1416.  
<https://doi.org/10.3390/plants10071416>
20. Satyal P, Murray BL, McFeeters RL, Setzer WN. Essential oil characterization of *Thymus vulgaris* from various geographical locations. *Foods*. 2016;5(4):70.  
<https://doi.org/10.3390/foods5040070>
21. Куркина АВ. *Флавоноиды фармакопейных растений*. Самара: Офорт; 2012.  
Kurkina AV. *Flavonoids of pharmacopoeial plants*. Samara: Ofort; 2012 (In Russ.).



**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Т.К. Рязанова — сбор материала, написание и подготовка текста рукописи; В.А. Куркин — концепция исследования, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

**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 Российской Федерации для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Tatyana K. Ryazanova collected the material, drafted and finalised the manuscript. V.A. Kurkin conceptualised the study and approved the final version for publication.

**Acknowledgements.** The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project "Development of national approaches to the standardisation of herbal medicinal products, medicinal plant raw materials and phytobiotechnological products" and was supported in the form of a Scholarship of the President of the Russian Federation for young scientists and postgraduates carrying out promising research and development in priority areas for Russian economy modernisation.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

#### ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Рязанова Татьяна Константиновна**, канд. фарм. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4581-8610>  
[t.k.ryazanova@samsmu.ru](mailto:t.k.ryazanova@samsmu.ru)

**Куркин Владимир Александрович**, д-р фарм. наук, профессор  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>  
[v.a.kurkin@samsmu.ru](mailto:v.a.kurkin@samsmu.ru)

**Tatyana K. Ryazanova**, Cand. Sci. (Pharm.)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4581-8610>  
[t.k.ryazanova@samsmu.ru](mailto:t.k.ryazanova@samsmu.ru)

**Vladimir A. Kurkin**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>  
[v.a.kurkin@samsmu.ru](mailto:v.a.kurkin@samsmu.ru)

Поступила 28.08.2022

После доработки 14.11.2022

Принята к публикации 21.11.2022

Online first 02.03.2023

Received 28 August 2022

Revised 14 November 2022

Accepted 21 November 2022

Online first 2 March 2023





В.М. Шукин<sup>1</sup>   
Е.А. Хорольская<sup>1</sup>   
Н.Е. Кузьмина<sup>1</sup>   
И.П. Ремезова<sup>2</sup>   
В.В. Косенко<sup>1</sup>

## Особенности элементного состава ламинарии слоевищ (*Laminariae thalli*) различного происхождения

<sup>1</sup> 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

<sup>2</sup> Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал  
Федерального государственного бюджетного учреждения высшего  
образования «Волгоградский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
просп. Кирова, д. 33, Пятигорск, 357500, Российская Федерация

✉ Шукин Виктор Михайлович; [Schukin@expmed.ru](mailto:Schukin@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

Содержание токсичных и эссенциальных элементов в слоевищах ламинарии широко варьирует в зависимости от таксономической группы и географических факторов. В связи с широким применением водорослей семейства ламинариевых в медицине, пищевой промышленности и ветеринарии является актуальным изучение зависимости элементного состава слоевищ ламинарии различного происхождения от места их произрастания.

**Цель работы** — обобщение и анализ собственных экспериментальных данных и данных литературы об особенностях накопления слоевищами бурых водорослей семейства *Laminariaceae* эссенциальных, токсичных и потенциально канцерогенных микроэлементов, а также йода.

**Материалы и методы:** в работе исследовано содержание 17 элементов в водорослях *Laminaria sp.* (Al, As, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Se, Pb, Sr, V, Zn, I). Экспериментальные исследования проведены на масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7900. С использованием информационно-аналитических методов были изучены литературные данные в области элементного состава водорослей семейства ламинариевых.

**Результаты:** отражены изменения в классификации бурых водорослей семейства ламинариевых и обобщены сведения о механизмах накопления ими микроэлементов и йода. Определено влияние вида макрофита на ряд биологического поглощения исследованных элементов. Установлены особенности накопления элементных токсикантов различными видами семейства *Laminariaceae*. С использованием коэффициентов ранговой корреляции Спирмена изучено взаимное влияние элементов на их накопление в ламинариевых водорослях.

**Выводы:** результаты исследования могут быть использованы для реализации риск-ориентированной стратегии контроля качества лекарственных растительных препаратов для снижения поступления в организм человека токсичных элементов. Высказано предположение о необходимости нормирования верхней границы содержания йода в пищевых продуктах на основе ламинарии.

**Ключевые слова:** бурые водоросли; ламинария; *Laminaria*; *Saccharina*; элементный состав; механизм накопления; синергизм; элементные токсиканты; тяжелые металлы; йод

**Для цитирования:** Шукин В.М., Хорольская Е.А., Кузьмина Н.Е., Ремезова И.П., Косенко В.В. Особенности элементного состава ламинарии слоевищ (*Laminariae thalli*) различного происхождения. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(2):154–172. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-527>

V.M. Shchukin<sup>1</sup> ✉,   
E.A. Khorolskaya<sup>1</sup>   
N.E. Kuz'mina<sup>1</sup>   
I.P. Remezova<sup>2</sup>   
V.V. Kosenko<sup>1</sup> 

## Elemental Composition of Kelp Thalli (*Laminariae thalli*) of Various Origins

<sup>1</sup> Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,  
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

<sup>2</sup> Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute,  
Branch of the Volgograd State Medical University,  
33 Kirov Ave., Pyatigorsk 357500, Russian Federation

✉ Victor M. Shchukin; [Schukin@expmed.ru](mailto:Schukin@expmed.ru)

### ABSTRACT

Brown seaweeds (*Laminariaceae*) vary considerably in the content of toxic and essential elements; these variations depend on the taxonomic group and geographical factors. Seaweeds are extensively used in the food industry and widely applied in medicine for both humans and animals. Therefore, it is relevant to examine the correlation between the elemental composition and the geographical origin of kelp thalli obtained from different sources.

**The aim of the study** was to collect, collate, and analyse primary and secondary data on the accumulation of essential, toxic and potentially carcinogenic elements, including iodine, in the thalli of brown seaweeds (*Laminariaceae*).

**Materials and methods.** This study investigated the concentrations of 17 elements in *Laminaria* spp. (Al, As, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Se, Pb, Sr, V, Zn, and I). Experiments were conducted on an Agilent 7900 inductively coupled plasma mass spectrometer. The authors studied publications on the elemental composition of brown seaweeds (*Laminariaceae*) using literature search and data analysis methods.

**Results.** This article reflects the updated classification of brown seaweeds (*Laminariaceae*) and summarises information about the mechanisms by which iodine and other elements accumulate in the thallus. The authors established species-specific variations in the order of element uptake and in the accumulation of elemental toxicants. The mutual influence of elements on their accumulation in brown seaweeds (*Laminariaceae*) was evaluated using Spearman's rank correlation coefficients.

**Conclusions.** The study results can inform the implementation of a risk-based quality control strategy for herbal medicinal products aimed at reducing human exposure to toxic elements. The authors suggest that the upper limit of iodine content in kelp-based food products should be standardised.

**Key words:** brown algae; kelp; *Laminaria*; *Saccharina*; elemental composition; accumulation mechanism; synergism; elemental toxicants; heavy metals; iodine

**For citation:** Shchukin V.M., Khorolskaya E.A., Kuz'mina N.E., Remezova I.P., Kosenko V.V. Elemental composition of kelp thalli (*Laminariae thalli*) of various origins. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):154–172. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-527>

### Введение

Бурые водоросли (*Phaeophyta*) принадлежат к линии растений (царство Хромисты (*Chromista*)), которая эволюционно развилась независимо от других основных фотосинтезирующих линий, таких как зеленые растения (*Chlorophyta*) и красные водоросли (*Rhodophyta*). Они также представляют собой одну из немногих линий эукариот среди всех видов водорослей, которые развили многоклеточность [1, 2]. Как следствие этой уникальной эволюционной истории бурые

водоросли обладают многими необычными и часто уникальными особенностями. За последние несколько десятилетий потребление морских водорослей в промышленности резко увеличилось во многих странах мира, в том числе и в России<sup>1</sup> [3]. Бурный рост культивирования водорослей произошел в середине 1970-х гг., и к настоящему времени в большинстве стран сбор диких растений для их использования в промышленности составляет лишь малую долю от выращенных<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> The state of world fisheries and aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); 2020. <http://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229en>

<sup>2</sup> Cai J. Global status of seaweed production, trade and utilization. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Seaweed Innovation Forum Belize. 28 May 2021. <https://www.competecaribbean.org/wp-content/uploads/2021/05/Global-status-of-seaweed-production-trade-and-utilization-Junning-Cai-FAO.pdf>

Наиболее распространенными морскими водорослями, используемыми для переработки, являются представители семейства ламинариевых (*Laminariaceae*)<sup>3</sup> [4, 5]. Эти растения активно используются в качестве лекарственного растительного сырья, сырья для фармацевтической и косметической продукции, производства продуктов питания, пищевых добавок. Область применения ламинариевых водорослей в фармацевтической промышленности обширна: получение биологически активных компонентов (альгиновая кислота и ее производные, фукоиданы, полифенолы, маннит и ламинаран) [3, 6], использование в высушенном виде в качестве лекарственного растительного препарата<sup>4</sup> [7]. В медицине препараты на основе слоевищ ламинарии широко используются для профилактики диабета [8] и йододефицитных состояний [9, 10], а также при других заболеваниях, в частности для лечения запоров [11–13]. Широко изучаются антиоксидантные [14] и гепатопротекторные [14, 15] свойства этих растений.

Использование в пищевой промышленности обусловлено наличием в бурых водорослях семейства ламинариевых клетчатки, белков, сахароспиртов и полисахаридов, макро- [16, 17] и микроэлементов (таких как железо, цинк, медь, селен, фтор и марганец) [18, 19], йода [20], аминокислот [19] и витаминов А, К, С, Е [18, 21]. Бурые водоросли — один из основных натуральных источников йода [22], что является важной причиной потребления данного растения. Следует отметить, что, накапливая эссенциальные элементы, бурые водоросли также обладают огромным потенциалом к накоплению токсичных элементов, особенно мышьяка [23]. По содержанию данного элемента они являются рекордсменами среди морских растений [24].

Цель работы — обобщение и анализ собственных экспериментальных данных и данных литературы об особенностях накопления слоевищами бурых водорослей семейства *Laminariaceae* эссенциальных, токсичных и потенциально канцерогенных микроэлементов, а также йода.

### Современная классификация водорослей семейства ламинариевых

В рамках современной классификации, основанной на результатах таксономических исследований молекулярно-генетическими методами,

семейство ламинариевые (*Laminariaceae*) включает 13 родов, объединяющих около 60 видов<sup>5</sup>. В данном обзоре рассматриваются два основных, наиболее значимых в экологическом и экономическом отношении рода: Ламинария (*Laminaria*) и Сахарина (*Saccharina*). Согласно Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ) к фармакопейным видам бурых водорослей относятся лишь *Saccharina latissima* (L.) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl et G.W. Saunders (синоним — *Laminaria saccharina* (L.) Lam.) и *Saccharina japonica* (Aresch.) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl et G.W. Saunders (синоним — *Laminaria japonica* Aresch.), однако такие виды, как *Saccharina longicuris* (Bach. Pyl.) Kuntze, *Laminaria digitata* (Huds.) Lam., *Laminaria ochroleuca* Bach. Pyl. и *Laminaria hyperborea* (Gunn.) Foslie, широко используются в разных отраслях народного хозяйства, поэтому они также включены в данный обзор. Следует отметить, что виды сахарин *S. latissima*, *S. japonica* и *S. longicuris* в рамках устаревшей классификации относились к роду *Laminaria* [25] (*L. saccharina*, *L. japonica* и *L. longicuris* соответственно). В данном обзоре мы придерживаемся современной классификации в указании видов несмотря на то, что во многих цитируемых первоисточниках приведены их устаревшие названия.

### Механизмы накопления тяжелых металлов, мышьяка, алюминия и йода

Изучение процессов поглощения тяжелых металлов бурыми водорослями началось еще в 1960-е гг. [26], однако исследование механизмов накопления и кинетики их связывания продолжается до настоящего времени [27–29]. Растворенные в морской воде химические вещества могут быть извлечены растениями-гидробионтами благодаря двум процессам: связыванию с поверхностью клеток (биосорбция) или накоплению внутри клеток (биоаккумуляция). Биосорбция представляет собой физико-химический процесс, напоминающий обычную абсорбцию или ионный обмен. Отличие заключается в природе сорбента, которым в данном случае является клеточная стенка слоевищ бурых водорослей. Биосорбция — метаболически-пассивный процесс. При биоаккумуляции процесс идет дальше. После связывания элементных поллютантов в процессе биосорбции происходит их транспорт с поверхности внутрь

<sup>3</sup> Cai J. Global status of seaweed production, trade and utilization. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Seaweed Innovation Forum Belize. 28 May 2021. <https://www.competecaribbean.org/wp-content/uploads/2021/05/Global-status-of-seaweed-production-trade-and-utilization-Junling-Cai-FAO.pdf>

<sup>4</sup> <https://girs.rosminzdrav.ru/>

<sup>5</sup> Guiry MD, Guiry GM. AlgaeBase version 4.2. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway; 2006. <http://www.algaebase.org>

клеток. Из всех морских водорослей – зеленых, красных и бурых – последние накапливают элементные контаминанты в наибольшем количестве [24]. Клеточная стенка бурых водорослей имеет множество химически активных функциональных групп (карбоксильных, аминных, имидазольных, фосфатных, фенольных, тиоэфирных, сульфгидрильных и т.д.), комбинации которых обеспечивают селективное связывание и взаимодействие с различными элементами в процессе биоадсорбции [30].

В большинстве случаев связывание тяжелых металлов на клеточной поверхности является результатом действия нескольких механизмов [29]: электростатического взаимодействия, ионного обмена и комплексообразования на поверхности клетки. Электростатическое взаимодействие является первой стадией биосорбции. Катион металла сначала притягивается функциональными группами полисахаридов и липидов на поверхности клетки ( $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{HPO}_4$ ,  $-\text{SO}_4$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{SH}$  и т.д.), а затем связывается с ними. Электростатическое взаимодействие в значительной степени зависит от кислотности реакционной среды, поскольку свойства заряда частиц металлов и клеточной поверхности различаются при разных значениях pH [28].

Ионообмен также зависит от кислотности воды. При низком значении pH катионы металлов и протоны конкурируют за места связывания, что приводит к низкой абсорбции ионов металлов. Кроме того, с увеличением кислотности воды возрастает количество положительно заряженных участков на поверхности клеток бурых водорослей, что вызывает электростатическое отталкивание катионов металлов. С увеличением значения pH возрастает число отрицательно заряженных активных центров на поверхности клеток, способных связываться с катионами металлов [30]. Функциональные группы полисахаридов более активно связываются со щелочными и щелочноземельными металлами (в частности, кальцием и стронцием), которые замещаются на элементы со сходным электронным строением, причем степень замещения возрастает с увеличением концентрации в воде последних [27]. Например, вытеснение кальция кадмием происходит в соотношении 1:1, что свидетельствует о том, что ионный обмен является основным механизмом биосорбции кадмия бурыми водорослями [29–31]. Аналогичным образом происходит связывание никеля [31], а также цинка и свинца [32]. Связывание железа во многом происходит за счет ионообменного процесса [33].

Поверхностное комплексообразование является еще одним механизмом биосорбции тяжелых металлов. Процесс хелатирования в данном случае возникает при взаимодействии катиона металла с несколькими лигандами полисахаридов, естественным образом присутствующих в стенках клеток морских бурых водорослей, например  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{RCOO}$ ,  $-\text{OH}$  [34]. Принято считать, что ключевую роль в комплексообразовании играют функциональные группы альгинатов и фукоидана [26, 35]. А. Науг и соавт. [35], изучая относительную способность различных металлов конкурировать за места связывания на поверхности клеток *L. digitata*, установили, что сила связывания металлов с альгинатами полиманнураном и полигулуронатом уменьшается в ряду  $\text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Ba}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$ . Он предположил, что способность конкурировать связана со стереохимическими эффектами, так как у более крупных ионов больше возможностей взаимодействовать с двумя удаленными функциональными группами альгината.

Следует отметить, что в настоящее время во многих исследовательских работах по биосорбции обсуждается мультиметаллическая биосорбция, описывающая механизм одновременного связывания широкого набора элементов с клеточной поверхностью водорослей. Было предложено много моделей оценки способности водорослей к биосорбции, но универсальная модель до сих пор не разработана [36].

Биоаккумуляция представляет собой более сложный, чем биосорбция, процесс, связанный с метаболической активностью клеток. Катионы токсичных металлов попадают в клетки посредством тех же процессов поглощения, что и катионы микроэлементов, особенно необходимых для жизнедеятельности растения во время фазы роста [37]. Как только тяжелые металлы проникают внутрь клеток через ионный канал, клетки активируют системы детоксикации для выведения этих поллютантов путем иммобилизации или выделения. Катионы металлов могут быть иммобилизованы клеточными вакуолями [38], связываться с внутриклеточными лигандами, такими как глутатион или различные полисахариды [37], или специфическими низкомолекулярными белками, такими как металлотионеин [39].

Биоаккумуляция мышьяка представляет особый интерес, так как бурые водоросли могут накапливать данный элемент заметно активнее, чем большинство наземных растений. В морской воде мышьяк присутствует в основном в наиболее устойчивой пентавалентной форме. Количество



усваиваемого водорослями арсената имеет обратную корреляцию с фосфатом (необходимым для жизнедеятельности растений) из-за схожести структуры данных соединений [40]. Это приводит к тому, что при низкой концентрации фосфатов в воде большое количество арсенатов поглощается биологическими системами бурых водорослей по механизму усвоения соединений фосфора [41]. Вытесняя фосфат в аденозинтрифосфате, мышьяк образует нестабильный комплекс аденозиндифосфата с мышьяком (ADP-As) [42], что приводит к преждевременной гибели водоросли. В качестве способа защиты эти растения восстанавливают As(V) до As(III), затем метилируют образовавшийся арсенит-ион и метаболизируют полученные соединения мышьяка до широкого спектра малотоксичных мышьяк-органических соединений<sup>6</sup> [43]. Следует отметить, что способность метаболизировать высокотоксичные неорганические формы мышьяка в малотоксичные органические различна у разных видов бурых водорослей. Например, *L. digitata*, в отличие от *Ascophyllum nodosum* (L.), в условиях сильного загрязнения окружающей среды способна накапливать значительное количество неорганических соединений мышьяка [44]. Для *S. japonica* также отмечена способность накапливать неорганический мышьяк (3,6 мг/кг) [43].

Отдельно следует остановиться на биоаккумуляции йода, так как бурые водоросли, в частности *L. digitata*, являются самыми активными аккумуляторами йода среди всех живых систем (содержание йода достигает 4,5% на сухую массу растения) [45]. Долгое время считалось, что значительная часть йода в ламинарии содержится в органической форме [46, 47], однако исследования последних лет ставят под сомнение это утверждение [9, 48]. В настоящее время установлено, что основными соединениями йода в ламинариевых водорослях являются йодиды (~90%) и йодаты (1–2%) [9, 49]. Вследствие уникального процесса эволюции (произрастания в приливо-отливной зоне океана) бурые водоросли выработали способность использовать йод в качестве неорганического антиоксиданта [50].

### Содержание элементов в слоевищах водорослей семейства ламинариевых различного происхождения

Бурые водоросли семейства *Laminariaceae* произрастают преимущественно в северном полушарии мирового океана. Элементный состав слоевищ исследованных видов ламинарий северного

полушария приведен в *таблице 1*. Собственные экспериментальные данные для видов *S. japonica* и *S. latissima* получены методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой с использованием микроволнового разложения органической матрицы по методике [51]. Количественное определение содержания элементов осуществляли, фиксируя интенсивности сигналов по следующим атомным единицам массы (а.е.м.): Al – 27, V – 51, Cr – 52, Mn – 55, Fe – 56, Co – 59, Ni – 60, Cu – 63, Zn – 66, As – 75, Se – 82, Sr – 88, Mo – 95, Cd – 111, I – 127, Hg – 202, Pb – 208. Анализ содержания элементов в каждом образце выполняли по трем параллельным определениям в пяти повторностях. Содержание элементов не разделено по сезонам сбора, в случае наличия результатов анализа за несколько сезонов одного года сбора данные усреднялись.

На основании данных *таблицы 1* показано, что содержание элементных контаминантов в слоевищах ламинарии различного происхождения варьирует в широком диапазоне (особенно для Al, Fe и Sr), что может быть связано с биологическими особенностями растений, географическими и сезонными факторами, а также степенью загрязненности окружающей среды. Так как в полученном массиве данных распределение отличается от нормального, целесообразно ориентироваться на медианное, а не на среднее значение концентрации элементов. В порядке убывания медианных значений элементы в слоевищах ламинарии можно расположить в следующий ряд, характеризующий интенсивность их биологического поглощения: I>Sr>Fe>Al>As>Zn>Mn>Cu>Pb>Cr>V>Ni>Se>Mo>Cd>Co>Hg. Следует отметить, что этот порядок зависит от вида ламинариевой водоросли:

*L. Japonica*: I>Sr>Al>Fe>As>Zn>Mn>Cu>Mo>V>Cr>Pb>Ni>Cd>Se>Co>Hg;

*L. Digitata*: I>Sr>As>Fe>Al>Zn>Mn>Cu>Cr>Ni>V>Cd>Pb>Co>Se>Hg>Mo;

*L. Saccharina*: I>Sr>Fe>As>Zn>Al>Mn>Cu>Cd>Cr>V>Ni>Mo>Pb>Se>Co>Hg;

*L. Longicruris*: I>Fe>As>Zn>Mn>Pb>Cu>Cr>Ni>Cd>V>Co>Mo;

*L. Ochroleuca*: I>As>Fe>Zn>Mn>Sr>Cu>Cd>Se>V>Ni>Pb>Cr>Co>Mo>Al>Hg;

*L. Hyperborea*: I>Sr>Fe>As>Zn>Mn>Al>Cd>Cu>Ni>Cr>Co>Pb>Se>Hg>V>Mo.

Для вида *Longicruris* отсутствуют данные о содержании Al, Se, Sr и Hg, поэтому эти элементы исключены из соответствующего ряда биологического поглощения. Различие в рядах

<sup>6</sup> Kalia K, Khambholja DB. Arsenic contents and its biotransformation in the marine environment. Handbook of arsenic toxicology. Academic Press; 2015.



**Таблица 1.** Элементный состав (мг/кг) слоевищ бурых водорослей родов ламинария (*Laminaria*) и сахарина (*Saccharina*) различного происхождения  
**Table 1.** Elemental composition (mg/kg) of thalli of brown seaweeds (*Laminaria* and *Saccharina* genera) of various origins

| Происхождение<br>[источник литературы]<br><i>Origin [reference]</i> | Al    | V    | Cr   | Mn    | Fe    | Co    | Ni   | Cu   | Zn    | As    | Se   | Sr    | Mo   | Cd    | Hg    | Pb    | I    |
|---------------------------------------------------------------------|-------|------|------|-------|-------|-------|------|------|-------|-------|------|-------|------|-------|-------|-------|------|
| <i>Saccharina japonica (Laminaria japonica)</i>                     |       |      |      |       |       |       |      |      |       |       |      |       |      |       |       |       |      |
| 1*                                                                  | 204,0 | 2,12 | 0,55 | 6,27  | 183,6 | 0,09  | 0,02 | 2,45 | 7,38  | 34,17 | 0,15 | 254,4 | 2,25 | 0,22  | 0,00  | 0,32  | 1217 |
|                                                                     | 134,7 | 0,98 | 0,36 | 8,23  | 165,6 | 0,08  | 0,02 | 1,38 | 13,94 | 27,02 | 0,17 | 306,8 | 1,51 | 0,37  | 0,09  | 0,22  | 2391 |
|                                                                     | 360,8 | 2,26 | 0,84 | 12,05 | 295,7 | 0,14  | 0,02 | 1,48 | 10,49 | 31,19 | 0,13 | 278,9 | 1,32 | 0,21  | 0,00  | 0,55  | 1474 |
| 2*                                                                  | 28,33 | 0,98 | 0,77 | 3,00  | 136,2 | 0,10  | 0,02 | 1,39 | 5,13  | 27,75 | 0,11 | 349,8 | 0,95 | 0,72  | 0,00  | 0,19  | 899  |
| 3[18]                                                               | 5,86  | 0,9  | 0,78 | 2,46  | 116   | 0,05  | 0,53 | 0,51 | 11,84 | -     | 1,59 | -     | -    | -     | -     | -     | -    |
| 4[52]                                                               | -     | -    | -    | 2     | 110   | -     | -    | 0,7  | 11,5  | 25    | -    | -     | -    | 0,176 | -     | 0,83  | -    |
| 5[52]                                                               | -     | -    | -    | 2,5   | 112,5 | -     | -    | 0,6  | 8     | 48    | -    | -     | -    | 0,019 | -     | 0,33  | -    |
| 6[52]                                                               | -     | -    | -    | 29,94 | 668,7 | -     | -    | 2,5  | 22,5  | -     | -    | -     | -    | 0,143 | -     | 0,162 | -    |
| 7[52]                                                               | -     | -    | -    | 14,97 | 219,6 | -     | -    | 2,5  | 17,4  | -     | -    | -     | -    | -     | -     | -     | -    |
| 8[52]                                                               | -     | -    | -    | 19,8  | 174,1 | -     | -    | 4,97 | 19,9  | -     | -    | -     | -    | -     | -     | -     | -    |
| 9[52]                                                               | -     | -    | -    | 14,9  | 89,8  | -     | -    | 2,5  | 12,48 | -     | -    | -     | -    | -     | -     | -     | -    |
| 10[53]                                                              | -     | -    | -    | 8,1   | 418,1 | -     | 2,4  | 1,6  | 12,2  | -     | -    | -     | -    | 1     | -     | 4,5   | -    |
|                                                                     | -     | -    | -    | 8,4   | 58,5  | -     | 1,8  | 0,7  | 20,6  | -     | -    | -     | -    | 0,7   | -     | 2,4   | -    |
|                                                                     | -     | -    | -    | 19    | 911,7 | -     | 2,4  | 1,7  | 25,8  | -     | -    | -     | -    | 0,8   | -     | 2     | -    |
| 11[54]                                                              | -     | -    | -    | 20,9  | 82,5  | -     | 2,4  | 1,2  | 18    | -     | -    | -     | -    | 0,8   | -     | 3     | -    |
|                                                                     | -     | -    | -    | 2,94  | 11,9  | -     | -    | 2,4  | 8,8   | -     | -    | -     | -    | 0,17  | -     | 0,87  | -    |
|                                                                     | 320   | -    | 1,99 | 8,06  | 210   | 0,27  | -    | -    | 19,8  | -     | -    | 332   | -    | -     | -     | -     | 3040 |
| 13[55]                                                              | -     | -    | -    | -     | -     | -     | -    | -    | 47    | -     | -    | -     | -    | 0,15  | 0,03  | -     | -    |
| 14[56]                                                              | 8,9   | 1,17 | 1    | 6,79  | 80    | 0,449 | 0,05 | 0,5  | 13    | 29    | 2    | -     | -    | -     | 0,4   | 0,22  | 2110 |
| 15[57]                                                              | -     | 0,82 | 0,47 | 4,03  | 75,47 | -     | 0,32 | 1,18 | 14,65 | -     | 0,28 | -     | -    | 0,23  | -     | 0,36  | -    |
| 16[58]                                                              | -     | -    | 1,7  | -     | -     | -     | -    | 9,77 | 40,3  | 77,03 | -    | -     | -    | 2     | 0,21  | 3,1   | -    |
| 17[59]                                                              | -     | -    | -    | -     | -     | -     | 0,53 | -    | 35    | 54    | -    | -     | -    | 0,47  | 0,018 | 0,312 | 3400 |

Продолжение таблицы 1  
Table 1 (continued)

| Происхождение<br>[источник литературы]<br><i>Origin [reference]</i> | Al    | V    | Cr   | Mn   | Fe    | Co    | Ni   | Cu    | Zn    | As    | Se   | Sr    | Mo   | Cd   | Hg    | Pb    | I    |
|---------------------------------------------------------------------|-------|------|------|------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|-------|------|------|-------|-------|------|
| 18[60]                                                              | -     | 0,37 | -    | 0,84 | 11,4  | 0,055 | -    | 0,65  | 2,8   | -     | -    | -     | -    | -    | 0,04  | 0,06  | -    |
| <i>Saccharina latissima (Laminaria saccharina)</i>                  |       |      |      |      |       |       |      |       |       |       |      |       |      |      |       |       |      |
| 19*                                                                 | 13,29 | 0,39 | 0,35 | 3,40 | 134,0 | 0,04  | 0,01 | 1,57  | 11,73 | 37,58 | 0,09 | 775,0 | 0,59 | 0,06 | 0,00  | 0,14  | 716  |
| 20*                                                                 | 17,09 | 0,49 | 0,69 | 4,33 | 190,5 | 0,06  | 0,02 | 1,70  | 11,45 | 34,26 | 0,05 | 929,4 | 0,46 | 0,07 | 0,00  | 0,34  | 293  |
| 21*                                                                 | 16,92 | 0,27 | 0,42 | 3,03 | 97,35 | 0,03  | 0,02 | 2,08  | 7,72  | 23,01 | 0,06 | 467,5 | 0,28 | 0,06 | 0,00  | 0,17  | 191  |
| 22[61]                                                              | -     | -    | -    | 5,7  | 160   | -     | -    | 1,2   | 25    | -     | 0,06 | -     | -    | -    | -     | -     | 4600 |
| 23[21]                                                              | 80    | -    | 0,29 | -    | 450   | -     | -    | 2     | 40    | -     | -    | 680   | -    | -    | -     | -     | 1340 |
| 24[62]                                                              | 46,5  | 1,37 | 0,33 | 10,8 | 68,9  | -     | 0,53 | 1,23  | 16,6  | 55,4  | -    | -     | -    | 0,64 | -     | 0,34  | -    |
| 25[56]                                                              | 7     | 0,66 | 0,5  | 3,04 | 40    | 0,084 | 0,57 | 0,5   | 8,5   | 76,2  | 5,2  | -     | -    | -    | 0,05  | 0,01  | 238  |
| 26[63]                                                              | 22,6  | -    | 0,76 | 3,55 | 60,5  | 0,188 | 0,44 | 0,765 | 7,95  | 60    | -    | -     | -    | 2,28 | -     | 0,09  | -    |
| 27[64]                                                              | -     | -    | 0,6  | 16   | 105   | 0,22  | 0,5  | 1,1   | 22    | 54,4  | -    | -     | -    | 0,61 | -     | 0,4   | -    |
| 28[65]                                                              | -     | -    | 1,89 | 4,18 | 124   | -     | 1,14 | 1,72  | 18,5  | 45,2  | -    | -     | -    | 2,96 | -     | 0,207 | -    |
| 29[20]                                                              | -     | -    | -    | -    | -     | -     | -    | -     | -     | 69,79 | -    | -     | -    | 0,6  | 0,03  | 0,19  | -    |
| 30[66]                                                              | -     | -    | -    | -    | 37    | 0,05  | -    | -     | 20    | 43    | -    | -     | -    | 0,13 | 0,03  | 0,18  | -    |
| 31[67]                                                              | -     | -    | -    | -    | -     | -     | -    | -     | -     | 65,3  | -    | -     | -    | 1,2  | 0,036 | 4,6   | -    |
| 32[67]                                                              | -     | -    | -    | -    | -     | -     | -    | -     | -     | 82    | -    | -     | -    | 1,64 | 0,042 | 6,2   | -    |
| 33[67]                                                              | -     | -    | -    | -    | -     | -     | -    | -     | -     | 50,8  | -    | -     | -    | 0,59 | 0,013 | 0,4   | -    |
| 34[67]                                                              | -     | -    | -    | -    | -     | -     | -    | -     | -     | 50,5  | -    | -     | -    | 0,85 | 0,012 | 0,13  | -    |
| 35[68]                                                              | -     | -    | -    | -    | 292,7 | -     | -    | -     | 58,3  | 39,06 | 0,12 | -     | -    | 3,03 | 0,023 | 0,82  | 2630 |
| 36[69]                                                              | -     | -    | -    | 3,91 | 30    | 0,39  | -    | 1,17  | 41,5  | -     | 1,3  | -     | -    | -    | -     | -     | 957  |
| <i>Saccharina longicruris (Laminaria longicruris)</i>               |       |      |      |      |       |       |      |       |       |       |      |       |      |      |       |       |      |
| 37[70]                                                              | -     | -    | 1,2  | -    | 86    | -     | 1,5  | 1,7   | 56    | -     | -    | -     | -    | 2,1  | -     | 8,5   | -    |
| 38 [70]                                                             | -     | -    | 1    | -    | 270   | -     | 1    | 1,6   | 26    | -     | -    | -     | -    | 0,5  | -     | 2,1   | -    |

Продолжение таблицы 1  
Table 1 (continued)

| Происхождение<br>[источник литературы]<br><i>Origin [reference]</i> | Al   | V    | Cr    | Mn   | Fe    | Co    | Ni    | Cu   | Zn   | As    | Se    | Sr   | Mo   | Cd   | Hg    | Pb    | I     |
|---------------------------------------------------------------------|------|------|-------|------|-------|-------|-------|------|------|-------|-------|------|------|------|-------|-------|-------|
| 39[70]                                                              | -    | -    | 2,3   | -    | 90    | -     | 1     | 1    | 22   | -     | -     | -    | -    | 0,5  | -     | 2     | -     |
| 40[70]                                                              | -    | -    | 2,7   | -    | 41    | -     | 1,3   | 2,1  | 35   | -     | -     | -    | -    | 0,5  | -     | 5,5   | -     |
| 41[70]                                                              | -    | -    | 3     | -    | 370   | -     | 4,5   | 5,8  | 25   | -     | -     | -    | -    | 1,2  | -     | 5,7   | -     |
| 42[70]                                                              | -    | -    | 1,4   | -    | 56    | -     | 1,6   | 2,8  | 18   | -     | -     | -    | -    | 0,8  | -     | 10,7  | -     |
| 43[71]                                                              | -    | -    | 1,47  | 9,7  | 308   | 0,24  | 1,36  | 2,8  | 31,2 | 60,1  | -     | -    | -    | 1,53 | -     | 0,4   | 763   |
| <i>Laminaria digitata</i>                                           |      |      |       |      |       |       |       |      |      |       |       |      |      |      |       |       |       |
| 39[70]                                                              | -    | -    | 4,85  | --   | 10    | -     | 1     | 1,5  | 29   | -     | -     | -    | -    | 0,2  | -     | 3,4   | -     |
| 42[70]                                                              | -    | -    | 1,3   | -    | 47    | -     | 1     | 2,9  | 20   | -     | -     | -    | -    | 0,4  | -     | 7,1   | -     |
| 22[61]                                                              | -    | -    | -     | 3,1  | 150   | -     | -     | 1,3  | 81   | -     | 0,07  | -    | -    | -    | -     | -     | 10000 |
| 23[21]                                                              | 210  | -    | 0,21  | -    | 300   | -     | -     | 2    | 50   | -     | -     | 1120 | -    | -    | -     | -     | 1310  |
| 24[62]                                                              | 24,4 | 0,44 | 0,5   | 20,5 | 63,5  | -     | 0,59  | 2,71 | 22,2 | 52,1  | -     | -    | -    | 0,66 | -     | 0,15  | -     |
| 44[72]                                                              | 60   | -    | 1,5   | 4,6  | 111   | -     | 0,68  | 4,5  | 72   | -     | -     | 901  | -    | 2,1  | -     | -     | -     |
| 45[73]                                                              | 57   | -    | 0,88  | 6,3  | 139   | -     | 0,48  | 6,6  | 39,8 | 96,3  | -     | 711  | -    | -    | -     | 0,34  | 6531  |
| 26[63]                                                              | 11,2 | -    | 0,74  | 2,85 | 45,5  | 0,215 | 0,48  | 1,24 | 10,6 | 70    | -     | -    | -    | 0,53 | -     | 0,055 | -     |
| 27[64]                                                              | -    | -    | 0,5   | 3    | 24    | 0,08  | 0,5   | 2,4  | 20   | 58,9  | -     | -    | -    | 0,25 | -     | 0,8   | -     |
| 30[66]                                                              | -    | -    | -     | -    | 13    | 0,03  | -     | -    | 22   | 41    | -     | -    | -    | 0,05 | 0,02  | 0,16  | -     |
| 46[74]                                                              | -    | -    | 0,225 | 3,56 | 103,9 | 0,06  | 2,08  | 0,99 | 57,1 | 187,4 | -     | -    | -    | 0,09 | 0,04  | 0,06  | -     |
| 47[74]                                                              | -    | -    | 0,28  | 3,2  | 95,4  | 0,07  | 0,61  | 0,58 | 47,2 | 172   | -     | -    | -    | 0,12 | 0,013 | 0,03  | -     |
| 48[75]                                                              | -    | 0,56 | -     | -    | -     | 0,07  | -     | 3,4  | 35,5 | 69,5  | -     | -    | -    | 0,1  | -     | -     | -     |
| 49[19]                                                              | -    | -    | -     | 3,1  | 58    | -     | -     | 1,6  | 24   | 64    | 0,021 | -    | -    | 0,1  | 0,006 | -     | 3100  |
| <i>Laminaria ochroleuca</i>                                         |      |      |       |      |       |       |       |      |      |       |       |      |      |      |       |       |       |
| 50[16]                                                              | -    | 0,6  | 0,25  | 8,61 | 27,8  | 0,16  | 0,48  | 2,5  | 10,3 | -     | -     | -    | 0,08 | 0,39 | -     | -     | -     |
| 51[76]                                                              | -    | -    | 0,484 | -    | 31,8  | 0,049 | 0,709 | 2,83 | 28,8 | 76,8  | 0,537 | -    | -    | -    | -     | -     | -     |

Продолжение таблицы 1  
Table 1 (continued)

| Происхождение<br>[источник литературы]<br><i>Origin [reference]</i> | Al    | V      | Cr    | Mn    | Fe     | Co    | Ni     | Cu    | Zn    | As     | Se     | Sr     | Mo   | Cd    | Hg     | Pb    | I     |
|---------------------------------------------------------------------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|-------|--------|--------|--------|------|-------|--------|-------|-------|
| 36[69]                                                              | -     | -      | -     | 8,62  | 179    | 0,12  | -      | 1,22  | 24,75 | -      | 0,94   | -      | -    | -     | -      | -     | 883   |
| 52[77]                                                              | -     | -      | 0,9   | 2,84  | -      | 0,2   | -      | -     | 4,9   | 48     | -      | 40,9   | -    | 3,4   | -      | 0,53  |       |
| <i>Laminaria hyperborea</i>                                         |       |        |       |       |        |       |        |       |       |        |        |        |      |       |        |       |       |
| 45[73]                                                              | 69,9  | -      | 0,84  | 7,7   | 149    | -     | 0,53   | 3,6   | 32,6  | 82,4   | -      | 706    | -    | -     | -      | 0,36  | 6205  |
| 53[78]                                                              | -     | -      | -     | -     | -      | -     | -      | -     | -     | 62,7   | -      | -      | -    | 1,77  | 0,032  | 0,45  | 4100  |
| 46[74]                                                              | -     | -      | 0,44  | 2,76  | 88     | 0,2   | 1,1    | 0,59  | 50,6  | 233    | -      | -      | -    | 0,82  | 0,02   | 0,06  | -     |
| 47[74]                                                              | -     | -      | 0,43  | 2,8   | 96     | 0,11  | 0,75   | 0,64  | 45,7  | 103    | -      | -      | -    | 1     | 0,015  | 0,06  | -     |
| 54[79]                                                              | 1,467 | -      | 0,112 | -     | 9,3    | -     | 0,174  | 0,687 | 24,19 | 57,59  | -      | -      | -    | 0,538 | 0,028  | 0,036 | -     |
| 55[79]                                                              | 0,911 | -      | 0,102 | -     | 9,64   | -     | 0,131  | 0,803 | 46,64 | 70,93  | -      | -      | -    | 1,044 | 0,081  | 0,024 | -     |
| 56[79]                                                              | 1,969 | -      | 0,08  | -     | 11,07  | -     | 0,111  | 0,708 | 49,36 | 54,45  | -      | -      | -    | 0,787 | 0,63   | 0,056 | -     |
| 57[19]                                                              | -     | -      | -     | 6,5   | 120    | -     | -      | 1,7   | 22    | 55     | 0,033  | -      | -    | 0,48  | 0,007  | -     | 3500  |
| Среднее значение<br><i>Mean</i>                                     | 74,04 | 0,90   | 0,95  | 7,51  | 143,24 | 0,13  | 0,85   | 1,98  | 26,05 | 64,88  | 0,68   | 558,30 | 0,93 | 0,79  | 0,08   | 1,49  | 2600  |
| Медиана<br><i>Median</i>                                            | 23,5  | 0,82   | 0,74  | 5,7   | 89,9   | 0,115 | 0,68   | 1,5   | 22,35 | 60     | 0,7385 | 708,5  | 0,08 | 0,625 | 0,03   | 0,36  | 2835  |
| Минимальное значение<br><i>Minimum</i>                              | 0,911 | 0,2745 | 0,08  | 2     | 9,3    | 0,03  | 0,0148 | 0,5   | 4,9   | 23,011 | 0,021  | 4,09   | 0,08 | 0,019 | 0,0127 | 0,01  | 191   |
| Максимальное значение<br><i>Maximum</i>                             | 360,8 | 2,26   | 4,85  | 29,94 | 911,7  | 0,449 | 4,5    | 9,77  | 81    | 233    | 5,2    | 1120   | 2,25 | 3,4   | 0,63   | 10,7  | 10000 |

**Примечание.** Цифрами обозначены: место сбора образцов, год (если доступно).  
 9. мыс Мраморный, зал. Анива, Тихий океан.  
 10. бухта Козьмина, Тихий океан.  
 11. Нет данных.  
 12. Желтое море, Тихий океан.  
 13. Японское море, Тихий океан.  
 14. Японское море, Тихий океан.  
 15. Китай, Южно-Китайское море, Тихий океан.  
 16. Китай, Желтое море, Тихий океан.  
 17. Нет данных.  
 18. Китай, г. Циндао, Желтое море, Тихий океан.  
 19. Белое море, Северный Ледовитый океан.  
 20. г. Архангельск, Белое море.  
 21. о. Соловецкий, Белое море, 2021 г.  
 22. Северная Норвегия, Атлантический океан.  
 23. о. Соловецкий, Белое море, 2012 г.  
 24. Дания, пролив Каттегат.  
 25. Британское море, Северный Ледовитый океан.  
 26. Гренландское море, Атлантический океан.  
 27. пролив Скагеррак, Атлантический океан.  
 28. Гренландия, Атлантический океан.

Продолжение таблицы 1

Table 1 (continued)

|                                                                                |                                                                      |                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 29. Тронхеймс-фьорд, Норвежское море, Атлантический океан.                     | 57. Северная Норвегия, Норвежское море, Атлантический океан.         | 28. Greenland, Atlantic Ocean.                               |
| 30. архипелаг Сулунн, Норвежское море, Атлантический океан.                    | <b>Жирным шрифтом отмечены максимальные концентрации элемента.</b>   | 29. Trondheims Fjord, Norwegian Sea, Atlantic Ocean.         |
| 31. архипелаг Шпицберген, Гренландское море, Северный Ледовитый океан, 2003 г. | * – Собственные экспериментальные данные.                            | 30. Solund Archipelago, Norwegian Sea, Atlantic Ocean.       |
| 32. губа Дроздовка, Баренцево море, Северный Ледовитый океан, 2003 г.          | «–» – не обнаружен.                                                  | 31. Svalbard Archipelago, Greenland Sea, Arctic Ocean, 2003. |
| 33. архипелаг Шпицберген, Гренландское море, Северный Ледовитый океан, 2018 г. | <b>Note. Numbers indicate sampling site and year (if available).</b> | 32. Drozdovka Bay, Barents Sea, Arctic Ocean, 2003.          |
| 34. губа Дроздовка, Баренцево море, Северный Ледовитый океан, 2018 г.          | <b>1. China, East China Sea, Pacific Ocean.</b>                      | 33. Svalbard Archipelago, Greenland Sea, Arctic Ocean, 2018. |
| 35. Фарерские о-ва, Атлантический океан.                                       | 2. Sakhalin Island, Sea of Okhotsk, Pacific Ocean.                   | 34. Drozdovka Bay, Barents Sea, Arctic Ocean, 2018.          |
| 36. Португалия, Атлантический океан.                                           | 3. South Kuril Islands, Sea of Okhotsk, 2015.                        | 35. Faroe Islands, Atlantic Ocean.                           |
| 37. залив Св. Лаврентия, Атлантический океан.                                  | 4. Primorsky Territory, Rudnaya Bay, Sea of Japan, 2008.             | 36. Portugal, Atlantic Ocean.                                |
| 38. Новая Шотландия, Атлантический океан.                                      | 5. Primorsky Territory, Olimpiady Cape, Sea of Japan, 2008.          | 37. Gulf of St. Lawrence, Atlantic Ocean.                    |
| 39. мыс Эдвардс, Новая Шотландия, Атлантический океан.                         | 6. Tret'ya Pad' Village, Aniva Bay, Pacific Ocean.                   | 38. Nova Scotia, Atlantic Ocean.                             |
| 40. бухта Мадден, Новая Шотландия, Атлантический океан.                        | 7. Anastasia Cape, Aniva Bay, Pacific Ocean.                         | 39. Cape Edwards, Nova Scotia, Atlantic Ocean.               |
| 41. пролив Кансо, Новая Шотландия, Атлантический океан.                        | 8. Prigorodnoye Village, Aniva Bay, Pacific Ocean.                   | 40. Madden Cove, Nova Scotia, Atlantic Ocean.                |
| 42. о. Пампкин, Новая Шотландия, Атлантический океан.                          | 9. Miramorny Cape, Aniva Bay, Pacific Ocean.                         | 41. Strait of Canso, Nova Scotia, Atlantic Ocean.            |
| 43. залив Св. Лаврентия, Атлантический океан.                                  | 10. Kozmin Bay, Pacific Ocean.                                       | 42. Pimpkin Island, Nova Scotia, Atlantic Ocean.             |
| 44. Кельтское море, Атлантический океан.                                       | 11. no data.                                                         | 43. Gulf of St. Lawrence, Atlantic Ocean.                    |
| 45. Шотландия, Атлантический океан.                                            | 12. Yellow Sea, Pacific Ocean.                                       | 44. Celtic Sea, Atlantic Ocean.                              |
| 46. Западная Ирландия, Атлантический океан, 2016 г.                            | 13. Sea of Japan, Pacific Ocean.                                     | 45. Scotland, Atlantic Ocean.                                |
| 47. Западная Ирландия, Атлантический океан, 2017 г.                            | 14. Sea of Japan, Pacific Ocean.                                     | 46. Western Ireland, Atlantic Ocean, 2016.                   |
| 48. Западная Ирландия, Атлантический океан.                                    | 15. China, South China Sea, Pacific Ocean.                           | 47. Western Ireland, Atlantic Ocean, 2017.                   |
| 49. Северная Норвегия, Норвежское море, Атлантический океан.                   | 16. China, Yellow Sea, Pacific Ocean.                                | 48. Western Ireland, Atlantic Ocean.                         |
| 50. о. Тенерифе, Атлантический океан.                                          | 17. no data.                                                         | 49. Northern Norway, Norwegian Sea, Atlantic Ocean.          |
| 51. Нет данных.                                                                | 18. China, Qingdao City, Yellow Sea, Pacific Ocean.                  | 50. Tenerife Island, Atlantic Ocean.                         |
| 52. Испания, Бискайский залив, Атлантический океан.                            | 19. White Sea, Arctic Ocean.                                         | 51. no data.                                                 |
| 53. о. Фрея, Норвежское море, Атлантический океан.                             | 20. Arkhangelsk City, White Sea.                                     | 52. Spain, Bay of Biscay, Atlantic Ocean.                    |
| 54. о. Фрея, Норвежское море, Атлантический океан, 2015 г.                     | 21. Solovetsky Island, White Sea, 2021.                              | 53. Freya Island, Norwegian Sea, Atlantic Ocean, 2015.       |
| 55. о. Фрея, Норвежское море, Атлантический океан, 2016 г.                     | 22. Northern Norway, Atlantic Ocean.                                 | 54. Freya Island, Norwegian Sea, Atlantic Ocean, 2016.       |
| 56. о. Фрея, Норвежское море, Атлантический океан, 2017 г.                     | 23. Solovetsky Island, White Sea, 2012.                              | 55. Freya Island, Norwegian Sea, Atlantic Ocean, 2017.       |
|                                                                                | 24. Denmark, Kattegat Strait.                                        | 56. Freya Island, Norwegian Sea, Atlantic Ocean.             |
|                                                                                | 25. British Columbia, Pacific Ocean.                                 | 57. Northern Norway, Norwegian Sea, Atlantic Ocean.          |
|                                                                                | 26. Greenland Sea, Arctic Ocean.                                     |                                                              |
|                                                                                | 27. Skagerrak Strait, Atlantic Ocean.                                |                                                              |

**Bold type marks the maximum concentration of the element.**

\* Authors' own experimental data.

–, not detected.



связано с особенностями содержания полисахаридов и липидов в клеточных стенках водорослей. Существенное влияние на элементный состав водорослей также оказывают сезон их сбора (различие в общей зольности варьирует в диапазоне 14–35% в течение года) [72], кислотность воды и ее элементный состав в месте сбора образцов. Большинство авторов основным фактором, влияющим на элементный состав бурых водорослей, считают именно элементный состав воды в месте произрастания. Этот вывод основан на том, что бурые водоросли являются отличными абсорбентами [34, 36] и содержание большинства элементов в них хорошо коррелирует с элементным составом морской воды [58, 75]. Кроме того, в литературе высказано мнение, что на элементный состав бурых водорослей большое влияние оказывает элементный состав донных отложений [67].

Несмотря на наблюдаемые различия в рядах биологического поглощения, можно выделить элементы, которые аккумулируются наиболее активно: I, Sr, Fe, As, Zn, Al, Mn. Высокое содержание Sr во всех исследованных образцах обусловлено сильным связыванием данного щелочноземельного элемента с поверхностью клеточных стенок растения [35]. Максимальные значения медианного содержания элементов Al, V, Fe, Mo, Hg наблюдаются в слоевищах *S. japonica*, Cr, Mn, Co, Ni и Cd – *S. longicuris*, As, Sr и I – *L. digitata*, Cu и Se – *L. ochroleuca*, Zn – *L. hyperborea*.

В условиях высокой антропогенной нагрузки окружающей среды бурые водоросли способны накапливать элементы в аномально высоких концентрациях. Например, в условиях сильного загрязнения железом припортовых вод *S. longicuris* способна накапливать до 8700 мг/кг данного элемента [70]. Зафиксировано аномально высокое содержание хрома в образцах из г. Шаньтоу, Китай (108 мг/кг, без указания вида ламинарии) [60]. В условиях загрязненности окружающей воды мышьяком наблюдается повышенное содержание его неорганических форм в *L. digitata* [44] (до 77 мг/кг [80]). Следует отметить, что, несмотря на относительную устойчивость ламинариевых водорослей к произрастанию в условиях антропогенной нагрузки, высокие концентрации тяжелых металлов, в частности меди, кадмия [37], кобальта [81],

ртути и цинка заметно угнетают развитие и рост растения.

Согласно ГФ РФ установлены общие нормы содержания в лекарственном растительном сырье 4-х основных токсичных элементов: As (допустимое содержание не более 0,5 мг/кг), Cd (не более 1,0 мг/кг), Hg (не более 0,1 мг/кг) и Pb (не более 6,0 мг/кг<sup>7</sup>), однако для слоевищ ламинарии установлена индивидуальная норма As (не более 90 мг/кг<sup>8</sup>). Согласно собственным экспериментальным данным и данным литературы максимальное содержание As ни в одном из изученных образцов ламинариевых водорослей не превышает указанный предел допустимого содержания. Содержание Pb в большинстве случаев ниже установленной нормы, достигая предела допустимого содержания лишь в одном образце *S. latissima*. Содержание Cd в нескольких образцах превышает значение нормы, указанное в ГФ РФ, оставаясь при этом ниже допустимого содержания этого элемента, установленного Европейской фармакопеей для бурых водорослей в целом<sup>9</sup>. Содержание Hg, заметно превышающее предел допустимого содержания, наблюдается в ряде образцов *S. japonica*.

Содержание йода в изученных образцах варьирует в широких пределах (200–10000 мг/кг) при медианном значении 2830 мг/кг. Согласно ГФ РФ установлено минимальное содержание данного элемента в лекарственном растительном сырье на уровне 1000 мг/кг. Практически все образцы *S. japonica* соответствуют данному требованию, однако часть образцов *S. latissima* не содержат необходимого количества йода. Согласно данным литературы *L. digitata*, напротив, отличается самой высокой способностью к биоаккумуляции данного элемента [45] и способна накапливать его в аномально высоких количествах [61]. При использовании продуктов на основе *L. digitata* в пищу столь высокое количество йода может вызывать гипертиреоз [82], что заставляет задуматься о возможном нормировании предельного содержания йода в пищевой продукции на основе бурых водорослей. Необходимость нормирования верхней границы содержания йода в пищевых продуктах обусловлена тем, что в пищевой промышленности (в отличие от фармацевтической) не учитывают вид, а часто и род ламинариевых водорослей, что может стать причиной

<sup>7</sup> ОФС 1.5.3.009.15 Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

<sup>8</sup> ФС.2.5.0080.18 Ламинарии слоевища (морская капуста). Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М.; 2018.

<sup>9</sup> Monograph 01/2008:1426 Kelp. European Pharmacopoeia, 10th ed. Strasbourg: EDQM; 2020.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции Спирмена для взаимодействующих пар элементов в слоевищах ламинарии  
Table 2. Spearman correlation coefficients for interacting pairs of elements in kelp thalli

| Химический элемент<br>Chemical element | Al                      | As                     | Cd                     | Co                     | Cr                      | Cu                      | Fe                      | Hg                     | I                      | Mn               | Mo                     | Ni                      | Pb                     | Se                     | Sr                     | V               |
|----------------------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|
| As                                     | -0,251<br>(n=18)        |                        |                        |                        |                         |                         |                         |                        |                        |                  |                        |                         |                        |                        |                        |                 |
| Cd                                     | -0,121<br>(n=15)        | <b>0,596</b><br>(n=39) |                        |                        |                         |                         |                         |                        |                        |                  |                        |                         |                        |                        |                        |                 |
| Co                                     | 0,247<br>(n=13)         | 0,069<br>(n=23)        | <b>0,879</b><br>(n=21) |                        |                         |                         |                         |                        |                        |                  |                        |                         |                        |                        |                        |                 |
| Cr                                     | 0,281<br>(n=23)         | -0,083<br>(n=29)       | 0,345<br>(n=35)        | <b>0,551</b><br>(n=23) |                         |                         |                         |                        |                        |                  |                        |                         |                        |                        |                        |                 |
| Cu                                     | <b>0,651</b><br>(n=22)  | 0,344<br>(n=33)        | 0,207<br>(n=45)        | -0,324<br>(n=25)       | 0,140<br>(n=42)         |                         |                         |                        |                        |                  |                        |                         |                        |                        |                        |                 |
| Fe                                     | <b>0,816</b><br>(n=23)  | -0,411<br>(n=34)       | -0,049<br>(n=46)       | 0,086<br>(n=27)        | -0,337<br>(n=41)        | 0,378<br>(n=59)         |                         |                        |                        |                  |                        |                         |                        |                        |                        |                 |
| Hg                                     | <b>0,604*</b><br>(n=12) | 0,471<br>(n=29)        | 0,463<br>(n=28)        | 0,182<br>(n=15)        | -0,244<br>(n=17)        | <b>-0,521</b><br>(n=19) | <b>-0,591</b><br>(n=21) |                        |                        |                  |                        |                         |                        |                        |                        |                 |
| I                                      | 0,490<br>(n=14)         | <b>0,542</b><br>(n=18) | <b>0,591</b><br>(n=14) | <b>0,615</b><br>(n=13) | 0,476<br>(n=16)         | 0,110<br>(n=21)         | 0,075<br>(n=23)         | <b>0,520</b><br>(n=14) |                        |                  |                        |                         |                        |                        |                        |                 |
| Mn                                     | <b>0,670</b><br>(n=18)  | 0,036<br>(n=28)        | 0,358<br>(n=33)        | 0,340<br>(n=25)        | -0,041<br>(n=29)        | 0,486<br>(n=45)         | 0,384<br>(n=45)         | 0,020<br>(n=15)        | 0,190<br>(n=20)        |                  |                        |                         |                        |                        |                        |                 |
| Mo                                     | <b>0,786*</b><br>(n=7)  | 0,036<br>(n=7)         | 0,190<br>(n=8)         | 0,119<br>(n=8)         | 0,405<br>(n=8)          | -0,476<br>(n=8)         | <b>0,643</b><br>(n=8)   | 0,406<br>(n=7)         | <b>0,893</b><br>(n=7)  | 0,190<br>(n=8)   |                        |                         |                        |                        |                        |                 |
| Ni                                     | -0,078<br>(n=20)        | <b>0,763</b><br>(n=28) | <b>0,770</b><br>(n=38) | 0,202<br>(n=21)        | <b>0,724*</b><br>(n=39) | 0,127<br>(n=43)         | -0,259<br>(n=43)        | 0,488<br>(n=16)        | 0,455<br>(n=12)        | 0,448<br>(n=31)  | -0,024<br>(n=8)        |                         |                        |                        |                        |                 |
| Pb                                     | <b>0,778</b><br>(n=17)  | -0,185<br>(n=40)       | <b>0,668</b><br>(n=51) | <b>0,523</b><br>(n=21) | <b>0,776*</b><br>(n=37) | 0,184<br>(n=44)         | -0,442<br>(n=46)        | 0,103<br>(n=27)        | 0,474<br>(n=16)        | 0,195<br>(n=33)  | 0,392<br>(n=7)         | <b>0,816</b><br>(n=40)  |                        |                        |                        |                 |
| Se                                     | -0,382<br>(n=10)        | 0,005<br>(n=13)        | 0,327<br>(n=11)        | 0,451<br>(n=13)        | 0,266<br>(n=12)         | <b>0,652*</b><br>(n=18) | -0,021<br>(n=15)        | 0,402<br>(n=12)        | 0,271<br>(n=16)        | 0,098<br>(n=17)  | <b>0,929</b><br>(n=7)  | <b>0,617*</b><br>(n=9)  | -0,036<br>(n=11)       |                        |                        |                 |
| Sr                                     | -0,451<br>(n=13)        | 0,272<br>(n=10)        | -0,416<br>(n=9)        | <b>-0,65</b><br>(n=9)  | -0,253<br>(n=14)        | 0,283<br>(n=12)         | -0,125<br>(n=12)        | -0,204<br>(n=7)        | 0,168<br>(n=12)        | -0,132<br>(n=10) | <b>-0,857</b><br>(n=7) | 0,212<br>(n=10)         | -0,333<br>(n=10)       | <b>-0,857</b><br>(n=7) |                        |                 |
| V                                      | <b>0,580</b><br>(n=12)  | -0,055<br>(n=12)       | 0,441<br>(n=12)        | <b>0,753</b><br>(n=13) | 0,439<br>(n=14)         | -0,278<br>(n=16)        | 0,345<br>(n=14)         | 0,129<br>(n=7)         | <b>0,717</b><br>(n=9)  | 0,404<br>(n=15)  | <b>0,714</b><br>(n=9)  | 0,129<br>(n=13)         | <b>0,615</b><br>(n=12) | 0,354<br>(n=11)        | <b>-0,786</b><br>(n=7) |                 |
| Zn                                     | 0,011<br>(n=22)         | <b>0,557</b><br>(n=38) | 0,479<br>(n=51)        | -0,015<br>(n=29)       | 0,246<br>(n=44)         | 0,123<br>(n=61)         | -0,186<br>(n=63)        | <b>0,535</b><br>(n=24) | <b>0,580</b><br>(n=24) | 0,444<br>(n=47)  | 0,024<br>(n=8)         | <b>0,718*</b><br>(n=44) | <b>0,646</b><br>(n=49) | -0,018<br>(n=19)       | <b>0,670</b><br>(n=14) | 0,071<br>(n=16) |

Примечание. Жирным шрифтом выделены значения заметной, сильной и очень сильной связи, n – число образцов, в которых определяли накопление данной пары элементов.  
\* коэффициент Спирмена статистически не значим.

Note. Bold type indicates moderate, strong, and very strong correlation; n is the number of samples in which the accumulation of the pair of elements was determined.  
\* Spearman's coefficient is not statistically significant.

превышения его рекомендованной нормы потребления (150 мкг/день)<sup>10</sup>.

### Особенности синергизма и антагонизма накопления элементов ламинариевыми водорослями

Для статистической оценки синергизма и антагонизма накопления элементов в растениях, как правило, используют коэффициент Пирсона. Для его применения необходимо, чтобы изучаемые величины имели нормальное (гауссово) распределение и объем выборки был не менее 25 наблюдений [83]. Так как распределение концентраций определяемых элементов в выборке изучаемых слоевищ ламинарии отличается от нормального, для оценки силы связи между парным накоплением элементов мы использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ). Для определения статистической значимости полученных величин  $r_s$  проводили  $t$ -тест на уровне значимости  $p > 0,05$ . Полученные значения  $r_s$  интерпретировали по шкале Чеддока, согласно которой сила связи ранжируется на слабую ( $|r_s| = 0,1-0,3$ ), умеренную ( $|r_s| = 0,3-0,5$ ), заметную ( $|r_s| = 0,5-0,7$ ), сильную ( $|r_s| = 0,7-0,9$ ) и очень сильную ( $|r_s| > 0,9$ ). Положительный знак коэффициента Спирмена свидетельствует о том, что содержание одного элемента усиливает накопление другого элемента (синергизм накопления), отрицательный — о препятствии одним элементом накоплению другого элемента (антагонизм накопления). Выборка включала в себя все изученные образцы ламинариевых водорослей без дифференциации по видам. Измеренные значения  $r_s$  для всех пар элементов представлены в таблице 2 (жирным шрифтом выделены значения  $r_s$ , соответствующие корреляции сильнее умеренной). Так как число определяемых элементов согласно данным литературы не было постоянным, то и число образцов, для которых определяли пары элементов ( $n$ ), также различалось между собой.

Согласно данным таблицы 2, в слоевищах ламинарии наблюдается 32 пары элементов, накопление которых взаимозависимо с силой связи более чем умеренной. Основными элементами, накопление которых статистически значимо зависит от накопления пяти и более других элементов ( $|r_s| > 0,5$ ), являются I, Al, Co, Sr, Zn. Очень сильная связь ( $|r_s| = 0,929$ ) установлена для пары Mo/Se, похожая сила зависимости накопления установлена также для пар Co/Cd и I/Mo. Йод

имеет самое большое количество сильных положительных связей в динамике накопления с другими элементами. Полученные значения коэффициентов корреляции несколько отличаются от данных, приведенных для норвежских образцов *Laminaria hyperborea* [79], что, по всей видимости, связано с ограниченностью ареала сбора изученных авторами образцов и видовыми особенностями накопления элементов данным растением. Кроме того, авторы [79] использовали иной способ математической обработки полученных экспериментальных данных.

В слоевищах ламинарии выявлено 6 случаев антагонизма элементов при их накоплении с  $|r_s| > 0,5$ : Co/Sr, Mo/Sr, Se/Sr, V/Sr, Hg/Cu, Hg/Fe. Наибольшее число антагонистических зависимостей (4 случая) приходится на Sr, из них три являются сильными с  $|r_s| > 0,7$  (Mo/Sr, Se/Sr, V/Sr), при этом связь для пары Sr/Zn является заметной положительной. Следует отметить, что результаты по исследованию антагонизма накопления элементов ламинариевыми водорослями противоречат данным литературы для наземных растений [84], согласно которым наибольшее число антагонистических зависимостей наблюдается для Fe, Mn, Cu, и Zn. Среди остальных микроэлементов в антагонистических отношениях к этой четверке часто оказываются Cr, Mo и Se. Можно предположить, что данное противоречие связано с особенностями эволюции бурых водорослей.

### Заключение

Рост интереса к использованию бурых водорослей в различных сферах народного хозяйства заставляет внимательно относиться к особенностям элементного состава данных растений, в том числе к содержанию в них токсичных элементов. В процессе эволюции бурые водоросли сформировали уникальные механизмы накопления различных элементов. В отличие от наземных растений, большая их часть накапливается не за счет механизма биоаккумуляции, а за счет биосорбции клеточными стенками. В основном связывание тяжелых металлов и алюминия происходит с участием различных функциональных групп полисахаридов и липидов. Уникальная способность ламинариевых водорослей накапливать мышьяк связана со схожестью ионов арсената и фосфата, в результате чего накопление данного элементного токсиканта происходит по тому же механизму,

<sup>10</sup> Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington (DC): National Academies Press (US); 2001. <https://doi.org/10.17226/10026>

по которому происходит усвоение соединений фосфора. Для детоксикации соединений мышьяка бурые водоросли окисляют и метилируют эти соединения.

Йод накапливается ламинарией преимущественно в виде неорганических йодидов и йодатов и выступает в роли защитного агента от агрессивных факторов окружающей среды. Высокое содержание йода в отдельных видах ламинариевых водорослей может быть причиной возникновения гипертериоза при потреблении пищевых продуктов на их основе. Это является поводом для нормирования верхней границы содержания данного элемента в слоевищах ламинарии при их использовании в пищевой промышленности.

Изученные виды ламинариевых водорослей различаются рядами биологического поглощения элементов, однако I, Sr, Fe, As, Zn, Al, Mn обладают наибольшей способностью к накоплению среди всех рассмотренных.

Несмотря на относительную устойчивость к произрастанию в условиях антропогенной нагрузки и способность к накоплению некоторых элементов в аномальных концентрациях, развитие и рост ламинариевых водорослей подвержены влиянию тяжелых металлов, присутствующих в морской воде в высоких концентрациях. Для слоевищ ламинариевых водорослей характерен синергизм при накоплении многих элементов, что необходимо учитывать в суммарной оценке негативного влияния тяжелых металлов и мышьяка, попадающих в организм с потреблением продуктов на основе данного растительного сырья.

Результаты исследования могут быть использованы при реализации риск-ориентированной стратегии контроля качества лекарственных растительных препаратов в фармакопейном анализе для снижения поступления в организм человека токсичных элементов.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bartsch I, Wiencke C, Bischof K, Buchholz CM, Buck BH, Eggert A, et al. The genus *Laminaria sensu lato*: recent insights and developments. *Eur J Phycol.* 2008;43(1):1–86.  
<https://doi.org/10.1080/09670260701711376>
2. Cock JM, Sterck L, Rouzé P, Scornet D, Allen AE, Amoutzias G, et al. The *Ectocarpus* genome and the independent evolution of multicellularity in brown algae. *Nature.* 2010;465(7298):617–21.  
<https://doi.org/10.1038/nature09016>
3. Подкорытова АВ, Рощина АН. Морские бурые водоросли — перспективный источник биоактивных веществ для медицинского, фармацевтического и пищевого применения. *Труды ВНИРО.* 2021;186:156–72.  
Podkorytova AV, Roshchina AN. Marine brown algae—perspective source of BAS for medical, pharmaceutical and food use. *Trudy VNIRO.* 2021;186:156–72 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.36038/2307-3497-2021-186-156-172>
4. Purcell-Meyerink D, Packer MA, Wheeler TT, Hayes M. Aquaculture production of the brown seaweeds *Laminaria digitata* and *Macrocystis pyrifera*: applications in food and pharmaceuticals. *Molecules.* 2021;26(5):1306.  
<https://doi.org/10.3390/molecules26051306>
5. Подкорытова АВ, Рощина АН, Бурова НВ. Водоросли-макрофиты прибрежных зон морей северного рыбохозяйственного бассейна: добыча, переработка, обоснование их комплексного использования. В кн.: *Инновационные направления интеграции науки, образования и производства.* Керчь; 2020. С. 271–6.  
Podkorytova AV, Roshchina AN, Burova NV. Algae-macrophytes of the coastal zones of the seas of the northern fishery basin: harvesting, processing, justification of their integrated use. In: *Innovative directions of integration of science, education and production.* Kerch; 2020. P. 271–6 (In Russ.).  
EDN: [FPDOBA](https://doi.org/10.3390/nu14020329)
6. Jimenez-Lopez C, Pereira AG, Lourenço-Lopes C, Garcia-Oliveira P, Cassani L, Fraga-Corral M, et al. Main bioactive phenolic compounds in marine algae and their mechanisms of action supporting potential health benefits. *Food Chem.* 2021;341(Pt 2):128262.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128262>
7. Турова АД. Лекарственные растения СССР и их применение. М.: Медицина; 1974.  
Turova AD. Medicinal plants of the USSR and their application. Moscow: Meditsina; 1974 (In Russ.).
8. Wang X, Zhang L, Qin L, Wang Y, Chen F, Qu C, et al. Physicochemical properties of the soluble dietary fiber from *Laminaria japonica* and its role in the regulation of type 2 diabetes mice. *Nutrients.* 2022;14(2):329.  
<https://doi.org/10.3390/nu14020329>
9. Blikra MJ, Henjum S, Aakre I. Iodine from brown algae in human nutrition, with an emphasis on bioaccessibility, bioavailability, chemistry, and effects of processing: a systematic review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2022;21(2):1517–36.  
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12918>
10. Демидова МА, Петрова МБ, Савчук ИА. Влияние сухого экстракта ламинарии японской на структуру и функцию щитовидной железы. *Современные проблемы науки и образования.* 2012;(2):84.  
Demidova MA, Petrova MB, Savchuk IA. Effect of extract *Laminaria* Japanese on structure and function of thyroid gland. *Modern Problems of Science and Education.* 2012;(2):84 (In Russ.).  
EDN: [OXCKOV](https://doi.org/10.3390/nu14020329)
11. Рыкова СМ. Применение растительных препаратов при лечении запора. *Трудный пациент.* 2018;16(6):26–33.



- Rykova SM. The use of herbal remedies in treatment of constipation. *Difficult Patient*. 2018;16(6):26–33 (In Russ.).  
EDN: [XYQDOX](#)
12. Буркитова АМ, Болотских ВМ. Комбинированный метод подготовки шейки матки к родам у беременных с отсутствием биологической готовности организма к родам при тенденции к перенашиванию. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2021;70(4):5–13. Burkitova AM, Bolotskikh VM. Combined method of preparing the *cervix uteri* for labor in pregnant women with a lack of birth preparedness and a tendency to post-term pregnancy. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2021;70(4):5–13 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.17816/IOWD64499>
13. Швецов ИС. Аппликационные гемостатические средства. Возможности и перспективы альгината натрия и хитозана. *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки*. 2021;(5):230–5. Shvetsov IS. Application hemostatic agents. Possibilities and prospects of sodium alginate and chitosan. *Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice. Series: Natural and Technical Sciences*. 2021;(5):230–5 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.37882/2223-2966.2021.05.35>
14. Reshma BS, Aavula T, Narasimman V, Ramachandran S, Essa MM, Qoronfleh MW. Antioxidant and antiaging properties of agar obtained from brown seaweed *Laminaria digitata* (Hudson) in D-galactose-induced Swiss albino mice. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2022;2022:7736378.  
<https://doi.org/10.1155/2022/7736378>
15. Jang EJ, Kim SC, Lee JH, Lee JR, Kim IK, Baek SY, et al. Fucoxanthin, the constituent of *Laminaria japonica*, triggers AMPK-mediated cytoprotection and autophagy in hepatocytes under oxidative stress. *BMC Complement Altern Med*. 2018;18(1):1–11.  
<https://doi.org/10.1186/s12906-018-2164-2>
16. Paz S, Rubio C, Frías I, Luis-González G, Gutiérrez ÁJ, González-Weller D, et al. Human exposure assessment to macro- and trace elements in the most consumed edible seaweeds in Europe. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019;26(36):36478–85.  
<https://doi.org/10.1007/s11356-019-06713-7>
17. Hou X, Yan X. Study on the concentration and seasonal variation of inorganic elements in 35 species of marine algae. *Sci Total Environ*. 1998;222(3):141–56.  
[https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(98\)00299-X](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(98)00299-X)
18. Подкорытова АВ, Рощина АН, Евсеева НВ, Усов АИ, Головин ГЮ, Попов АМ. Бурые водоросли порядков *Laminariales* и *Fucales* Сахалино-Курильского региона: запасы, добыча, использование. *Труды ВНИРО*. 2020;181:235–56. Podkorytova AV, Roshchina AN, Evseeva NV, Usov AI, Golovin GYu, Popov AM. Brown algae of the orders *Laminariales* and *Fucales* from the Sakhalin-Kuril region: stocks, extraction, use. *Trudy VNIRO*. 2020;181:235–56 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.36038/2307-3497-2020-181-235-256>
19. Mæhre HK, Malde MK, Eilertsen KE, Elvevoll EO. Characterization of protein, lipid and mineral contents in common Norwegian seaweeds and evaluation of their potential as food and feed. *J Sci Food Agric*. 2014;94(15):3281–90.  
<https://doi.org/10.1002/jsfa.6681>
20. Roleda MY, Skjermo J, Marfaing H, Jónsdóttir R, Rebours C, Gietl A, et al. Iodine content in bulk biomass of wild-harvested and cultivated edible seaweeds: inherent variations determine species-specific daily allowable consumption. *Food Chem*. 2018;254:333–9.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.024>
21. Боголицын КГ, Каплицин ПА, Ульяновский НВ, Пронина ОА. Комплексное исследование химического состава бурых водорослей Белого моря. *Химия растительного сырья*. 2012;(4):153–60. Bogolitsyn KG, Kaplitsin PA, Ul'yanovskiy NV, Pronina OA. A comprehensive study of the chemical composition of brown algae in the White Sea. *Chemistry of Plant Raw Material*. 2012;(4):153–60 (In Russ.).  
EDN: [PWEAXP](#)
22. Shokina Y, Kuchina Y, Savkina K, Novozhilova E, Tatienco K, Shokin G. The use of brown algae *Laminaria saccharina* in iodine enriched products aimed at preventing iodine deficiency. *KnE Life Sci*. 2022;135–45.  
<https://doi.org/10.18502/kls.v7i1.10115>
23. Luvonga C, Rimmer CA, Yu LL, Lee SB. Determination of total arsenic and hydrophilic arsenic species in seafood. *J Food Compos Anal*. 2021;96:103729.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103729>
24. Nazal MK. Marine algae bioadsorbents for adsorptive removal of heavy metals. *IntechOpen*. 2019;10:1–14.  
<https://doi.org/10.5772/intechopen.80850>
25. Lane CE, Mayes C, Druhl LD, Saunders GW. A multi-gene molecular investigation of the kelp (*Laminariales*, *Phaeophyceae*) supports substantial taxonomic re-organization. *J Phycol*. 2006;42(2):493–512.  
<https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00204.x>
26. Haug A. The affinity of some divalent metals to different types of alginates. *Acta Chem Scand*. 1961;15(8):1794–5.  
<https://doi.org/10.3891/ACTA.CHEM.SCAND.15-1794>
27. Santos SC, Ungureanu G, Volf I, Boaventura RA, Botelho CM. Macroalgae biomass as sorbent for metal ions. *Biomass as Renewable Raw Material to Obtain Bioproducts of High-Tech Value*. 2018;69–112.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63774-1.00003-X>
28. Utomo HD, Tan KXD, Choong ZYD, Yu JJ, Ong JJ, Lim ZB. Biosorption of heavy metal by algae biomass in surface water. *J Environ Prot Sci*. 2016;7(11):1547–60.  
<https://doi.org/10.4236/jep.2016.711128>
29. Yang T, Chen ML, Wang JH. Genetic and chemical modification of cells for selective separation and analysis of heavy metals of biological or environmental significance. *Trends Analyt Chem*. 2015;66:90–102.  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.11.016>
30. Volesky B. Biosorption and me. *Water Res*. 2007;41(18):4017–29.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.05.062>
31. Khajavian M, Wood DA, Hallajani A, Majidian N. Simultaneous biosorption of nickel and cadmium by the brown algae *Cystoseira indica* characterized



- by isotherm and kinetic models. *Appl Biol Chem*. 2019;62(1):1–12.  
<https://doi.org/10.1186/s13765-019-0477-6>
32. Kwiatkowska-Marks S, Miłek J, Trawczyńska I. Diffusion of Cd(II), Pb(II) and Zn(II) on calcium alginate beads. *Technical Sciences*. 2019;1(22):19–34.  
<https://doi.org/10.31648/ts.4345>
33. Wang Z, Liu J, Kale GM, Ghadiri M. Ion-exchange kinetics and thermal decomposition characteristics of Fe<sup>2+</sup>-exchanged alginic acid membrane for the formation of iron oxide nanoparticles. *J Mater Sci*. 2014;49(20):7151–5.  
<https://doi.org/10.1007/s10853-014-8423-9>
34. Ghimire KN, Inoue K, Ohto K, Hayashida T. Adsorption study of metal ions onto crosslinked seaweed *Laminaria japonica*. *Bioresour Technol*. 2008;99(1):32–7.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.057>
35. Haug A, Smidsrød O. Selectivity of some anionic polymers for divalent metal ions. *Acta Chem Scand*. 1970;24(3):843–54.  
<https://doi.org/10.3891/ACTA.CHEM.SCAND.24-0843>
36. Cechinel MAP, Mayer DA, Pozdniakova TA, Mazur LP, Boaventura RA, de Souza AAU, et al. Removal of metal ions from a petrochemical wastewater using brown macro-algae as natural cation-exchangers. *Chem Eng J*. 2016;286:1–15.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.10.042>
37. Simioni C, Schmidt EC, Rover T, dos Santos R, Filipin EP, Pereira DT, et al. Effects of cadmium metal on young gametophytes of *Gelidium floridanum*: metabolic and morphological changes. *Protoplasma*. 2015;252(5):1347–59.  
<https://doi.org/10.1007/s00709-015-0768-7>
38. Пищик ВН, Воробьев НИ, Проворов НА, Хомяков ЮВ. Механизмы адаптации растений и микроорганизмов в растительно-микробных системах к тяжелым металлам. *Микробиология*. 2016;85(3):231–47.  
<https://doi.org/10.7868/S0026365616030113>
- Pishchik VN, Vorob'ev NI, Provorov NA, Khomyakov YuV. Mechanisms of plant and microbial adaptation to heavy metals in plant-microbial systems. *Microbiology*. 2016;85(3):257–71.  
<https://doi.org/10.1134/S0026261716030097>
39. Malik A. Metal bioremediation through growing cells. *Environ Int*. 2004;30(2):261–78.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2003.08.001>
40. Neff JM. Ecotoxicology of arsenic in the marine environment. *Environ Toxicol Chem*. 1997;16(5):917–27.  
<https://doi.org/10.1002/etc.5620160511>
41. Zhao Y, Shang D, Ning J, Zhai Y. Arsenic and cadmium in the marine macroalgae (*Porphyra yezoensis* and *Laminaria japonica*) — forms and concentrations. *Chem Speciat Bioavailab*. 2012;24(3):197–203.  
<https://doi.org/10.3184/095422912X13404690516133>
42. Geiszinger A, Goessler W, Pedersen SN, Francesconi KA. Arsenic biotransformation by the brown macroalga *Fucus serratus*. *Environ Toxicol Chem*. 2001;20(10):2255–62.  
<https://doi.org/10.1002/etc.5620201018>
43. Абрамова ЛС, Гершунская ВВ, Козин АВ, Бондаренко ДА, Мурашев АН. Изучение токсичности мышьяксодержащих соединений, выделенных из бурой водоросли *Saccharina japonica*, на лабораторных животных. *Труды ВНИРО*. 2020;181:223–34.
- Abramova LS, Gershunskaya VV, Kozin AV, Bondarenko DA, Murashev AN. Study of toxicity of arsenic-containing compounds isolated from brown algae *Saccharina japonica* in laboratory animals. *Trudy VNIRO*. 2020;181:223–34 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.36038/2307-3497-2020-181-223-234>
44. Ronan JM, Stengel DB, Raab A, Feldmann J, O'Hea L, Bralatei E, et al. High proportions of inorganic arsenic in *Laminaria digitata* but not in *Ascophyllum nodosum* samples from Ireland. *Chemosphere*. 2017;186:17–23.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.076>
45. Gall EA, Küpper FC, Kloareg B. A survey of iodine content in *Laminaria digitata*. *Bot Mar*. 2004;47(1):30–7.  
<https://doi.org/10.1515/BOT.2004.004>
46. Подкорытова АВ, Вишневская ТИ. Морские бурые водоросли — естественный источник йода. *Парафармацевтика*. 2003;(2):22–3.
- Podkorytova AV, Vishnevskaya TI. Sea brown algae — a natural source of iodine. *Parapharmaceuticals*. 2003;(2):22–3 (In Russ.).
47. Беспалов ВГ, Некрасова ВБ, Скальный АВ. *Йод-Элам — продукт из ламинарии: применение в борьбе с йоддефицитными заболеваниями: пособие для врачей*. СПб: Нордмедиздат; 2010.
- Bespalov VG, Nekrasova VB, Skal'ny AV. *Yod-Elam — a product from kelp: use in the fight against iodine deficiency diseases: a guide for physicians*. St. Petersburg: Nordmedizdat; 2010 (In Russ.).
48. Küpper FC, Carrano CJ. Key aspects of the iodine metabolism in brown algae: a brief critical review. *Metallomics*. 2019;11(4):756–64.  
<https://doi.org/10.1039/c8mt00327k>
49. Lu Y, Suliman S, Hansen HR, Feldmann J. Iodine excretion and accumulation in seaweed-eating sheep from Orkney, Scotland. *Environ Chem*. 2006;3(5):338–44.  
<https://doi.org/10.1071/EN06041>
50. Küpper FC, Carpenter LJ, McFiggans GB, Palmer CJ, Waite TJ, Boneberg EM, et al. Iodide accumulation provides kelp with an inorganic antioxidant impacting atmospheric chemistry. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(19):6954–8.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0709959105>
51. Щукин ВМ, Жигилей ЕС, Ерина АА, Швецова ЮН, Кузьмина НЕ, Лутцева АИ. Валидация методики определения ртути, свинца, кадмия и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах на его основе методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;54(9):57–64.  
<https://doi.org/10.30906/0023-1134-2020-54-9-57-64>
- Shchukin VM, Zhigilei ES, Erina AA, Shvetsova YuN, Kuz'mina NE, Luttseva AI. Validation of an ICP-MS method for the determination of mercury, lead, cadmium and arsenic in medicinal plants and related drug preparations. *Pharm Chem J*. 2020;54(9):968–76.  
<https://doi.org/10.1007/s11094-020-02306-8>
52. Аминина НМ, Вишневская ТИ. Исследование процессов экстракции биогенных и токсичных элемен-

- тов из бурых водорослей, произрастающих в различных по загрязненности акваториях Японского моря. *Известия ТИНРО*. 2011;164:384–91.
- Aminina NM, Vishnevskaya TI. Extraction of biogenic and toxic elements from the kelps growing in the areas of the Japan Sea with different pollution. *Izvestiya TINRO*. 2011;164:384–91 (In Russ.). EDN: [NUUMVD](https://doi.org/10.26428/1606-9919-2015-180-179-186)
53. Христофорова НК, Гамаюнова ОА, Афанасьев АП. Состояние бухт Козьмина и Врангеля (залив Петра Великого, Японское море): динамика загрязнения тяжелыми металлами. *Известия ТИНРО*. 2015;180(1):179–86.
- Khristoforova NK, Gamayunova OA, Afanasiev A.P. State of the Kozmin and Wrangel Bays (Peter the Great Bay, Japan Sea): dynamics of pollution with heavy metals. *Izvestiya TINRO*. 2015;180(1):179–86 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.26428/1606-9919-2015-180-179-186>
54. Jurković N, Kolb N, Colić I. Nutritive value of marine algae *Laminaria japonica* and *Undaria pinnatifida*. *Nahrung*. 1995;39(1):63–6.  
<https://doi.org/10.1002/food.19950390108>
55. Almela C, Algora S, Benito V, Clemente MJ, Devesa V, Suner MA, et al. Heavy metal, total arsenic, and inorganic arsenic contents of algae food products. *J Agric Food Chem*. 2002;50(4):918–23.  
<https://doi.org/10.1021/jf0110250>
56. Van Netten C, Cann SH, Morley DR, van Netten JP. Elemental and radioactive analysis of commercially available seaweed. *Sci Total Environ*. 2000;255(1–3):169–75.  
[https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(00\)00467-8](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00467-8)
57. Li SX, Lin LX, Zheng FY, Wang QX. Metal bioavailability and risk assessment from edible brown alga *Laminaria japonica*, using biomimetic digestion and absorption system and determination by ICP–MS. *J Agric Food Chem*. 2011;59(3):822–8.  
<https://doi.org/10.1021/jf103480y>
58. Xu S, Yu Z, Zhou Y, Wang F, Yue S, Zhang X. Insights into spatiotemporal distributions of trace elements in kelp (*Saccharina japonica*) and seawater of the western Yellow Sea, Northern China. *Sci Total Environ*. 2021;774:145544.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145544>
59. Asensio JP, Uceda DA, Navarro PJ. Studying inorganic arsenic, heavy metals, and iodine in dried seaweed. *Spectroscopy*. 2021;36(S9):24–34.
60. Chen Y, Liu YT, Wang FH, Wen D, Yang H, Zhao XL. An investigation of toxic metal levels (Pb, Cd, Cr, As, Hg) in dried *Porphyra* and *Laminaria* collected from coastal cities, China. *Biol Trace Elem Res*. 2021;199(10):3987–97.  
<https://doi.org/10.1007/s12011-020-02509-w>
61. Biancarosa I, Belghit I, Bruckner CG, Liland NS, Waagbø R, Amlund H, et al. Chemical characterization of 21 species of marine macroalgae common in Norwegian waters: benefits of and limitations to their potential use in food and feed. *J Sci Food Agric*. 2018;98(5):2035–42.  
<https://doi.org/10.1002/jsfa.8798>
62. Nielsen MM, Manns D, D'Este M, Krause-Jensen D, Rasmussen MB, Larsen MM, et al. Variation in biochemical composition of *Saccharina latissima* and *Laminaria digitata* along an estuarine salinity gradient in inner Danish waters. *Algal Res*. 2016;13:235–45.  
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.12.003>
63. Ahn IY, Kim JH, Ji JY, Choi HJ, Chung H. Metal concentrations in some brown seaweeds from Kongsfjorden on Spitsbergen, Svalbard islands. *Ocean Polar Res*. 2004;26(2):121–32.  
<https://doi.org/10.4217/OPR.2004.26.2.121>
64. Olsson J, Toth GB, Albers E. Biochemical composition of red, green and brown seaweeds on the Swedish west coast. *J Appl Phycol*. 2020;32(5):3305–17.  
<https://doi.org/10.1007/s10811-020-02145-w>
65. Kreissig KJ, Hansen LT, Jensen PE, Wegeberg S, Geertz-Hansen O, Sloth JJ. Characterisation and chemometric evaluation of 17 elements in ten seaweed species from Greenland. *PLoS One*. 2021;16(2):e0243672.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243672>
66. Maulvault AL, Anacleto P, Barbosa V, Sloth JJ, Rasmussen RR, Tediosi A, et al. Toxic elements and speciation in seafood samples from different contaminated sites in Europe. *Environ Res*. 2015;143(Pt B):72–81.  
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.09.016>
67. Воскобойников ГМ, Никулина АЛ, Салахов ДО, Шахвердов ВА. Содержание тяжелых металлов в бурой водоросли *Saccharina latissima* Баренцева и Гренландского морей. *Наука Юга России*. 2019;15(2):39–44.
- Voskoboinikov GM, Nikulina AL, Salakhov DO, Shakhverdov VA. Content of trace metals in the brown algae *Saccharina latissima* from the Barents and Greenland Seas. *Science in the South of Russia*. 2019;15(2):39–44 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.7868/S25000640190205>
68. Bruhn A, Brynning G, Johansen A, Lindegaard MS, Sveigaard HH, Aarup B, et al. Fermentation of sugar kelp (*Saccharina latissima*) – effects on sensory properties, and content of minerals and metals. *J Appl Phycol*. 2019;31(5):3175–87.  
<https://doi.org/10.1007/s10811-019-01827-4>
69. Cabrita ARJ, Maia MR, Oliveira HM, Sousa-Pinto I, Almeida AA, Pinto E, et al. Tracing seaweeds as mineral sources for farm-animals. *J Appl Phycol*. 2016;28(5):3135–50.  
<https://doi.org/10.1007/s10811-016-0839-y>
70. Sharp GJ, Samant HS, Vaidya OC. Selected metal levels of commercially valuable seaweeds adjacent to and distant from point sources of contamination in Nova Scotia and New Brunswick. *Bull Environ Contam Toxicol*. 1988;40(6):724–30.  
<https://doi.org/10.1007/BF01697522>
71. Phaneuf D, Côté I, Dumas P, Ferron LA, LeBlanc A. Evaluation of the contamination of marine algae (seaweed) from the St. Lawrence River and likely to be consumed by humans. *Environ Res*. 1999;80(2):175–82.  
<https://doi.org/10.1006/enrs.1998.3915>

72. Adams JMM, Ross AB, Anastasakis K, Hodgson EM, Gallagher JA, Jones JM, et al. Seasonal variation in the chemical composition of the bioenergy feedstock *Laminaria digitata* for thermochemical conversion. *Bioresour Technol.* 2011;102(1):226–34. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.152>
73. Schiener P, Black KD, Stanley MS, Green DH. The seasonal variation in the chemical composition of the kelp species *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea*, *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta*. *J Appl Phycol.* 2015;27(1):363–73. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0327-1>
74. García-Vaquero M, Rajauria G, Miranda M, Sweeney T, Lopez-Alonso M, O'Doherty J. Seasonal variation of the proximate composition, mineral content, fatty acid profiles and other phytochemical constituents of selected brown macroalgae. *Mar Drugs.* 2021;19(4):204. <https://doi.org/10.3390/md19040204>
75. Ratcliff JJ, Wan AHL, Edwards MD, Soler-Vila A, Johnson MP, Abreu MH, et al. Metal content of kelp (*Laminaria digitata*) co-cultivated with Atlantic salmon in an Integrated Multi-Trophic Aquaculture system. *Aquaculture.* 2016;450:234–43. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.07.032>
76. García-Sartal C, del Carmen Barciela-Alonso M, Moreda-Piñeiro A, Bermejo-Barrera P. Study of cooking on the bioavailability of As, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Se and Zn from edible seaweed. *Microchem J.* 2013;108:92–9. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.10.003>
77. Moreda-Piñeiro J, Lonso-Rodríguez E, López-Mahía P, Muniategui-Lorenzo S, Prada-Rodríguez D, Moreda-Piñeiro A, et al. Development of a new sample pre-treatment procedure based on pressurized liquid extraction for the determination of metals in edible seaweed. *Anal Chim Acta.* 2007;598(1):95–102. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.07.030>
78. Noriega-Fernández E, Sone I, Astráin-Redín L, Prabhu L, Sivertsvik M, Álvarez I, et al. Innovative ultrasound-assisted approaches towards reduction of heavy metals and iodine in macroalgal biomass. *Foods.* 2021;10(3):649. <https://doi.org/10.3390/foods10030649>
79. Ervik H. The Kelp *Laminaria hyperborea* as a bioindicator. *Int. J. Water Technol. Treat. Meth.* 2019;2(1):1–4. <https://doi.org/10.31021/jwt.20192122>
80. García-Salgado S, Quijano MA, Bonilla MM. Arsenic speciation in edible alga samples by microwave-assisted extraction and high performance liquid chromatography coupled to atomic fluorescence spectrometry. *Anal Chim Acta.* 2012;714:38–46. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.12.001>
81. Wang X, Shan T, Pang S. Effects of cobalt on spore germination, gametophyte growth and development, and juvenile sporophyte growth of *Saccharina japonica* (Phaeophyceae). *J Appl Phycol.* 2020;32(1):511–18. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01955-x>
82. Konno N, Yuri K, Taguchi H, Miura K, Taguchi S, Hagiwara K, et al. Screening for thyroid diseases in an iodine sufficient area with sensitive thyrotrophin assays, and serum thyroid autoantibody and urinary iodide determinations. *Clin Endocrinol.* 1993;38(3):273–81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1993.tb01006.x>
83. Гржибовский АМ, Иванов СВ, Горбатова МА. Экологические (корреляционные) исследования в здравоохранении. *Наука и здравоохранение.* 2015;(5):5–18. Grijbovski AM, Ivanov SV, Gorbatoва MA. Ecological (correlation) studies in health sciences. *Science and Healthcare.* 2015;(5):5–18 (In Russ.). EDN: [VCFWAT](https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1993.tb01006.x)
84. Kabata-Pendias A. *Trace elements in soils and plants.* Boca Raton: CRC Press; 2000. <https://doi.org/10.1201/b10158>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: В.М. Щукин — идея, планирование исследования, подбор и анализ литературы, написание и оформление рукописи; Е.А. Хорольская — подбор литературы, сбор и систематизация данных; Н.Е. Кузьмина — анализ, систематизация и обобщение литературных и экспериментальных данных; И.П. Ремезова — редактирование текста рукописи, формулировка выводов; В.В. Косенко — ответственность за все аспекты работы, включая надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи, утверждение окончательного варианта статьи.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022400083-1).

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Victor M. Shchukin elaborated the study idea, planned the study, collected and analysed literature, drafted and formatted the manuscript. Elena A. Khorolskaya selected literature, collected and collated data. Natalia E. Kuz'mina analysed, systemised, and summarised primary and secondary data. Irina P. Remezova edited the manuscript and formulated the conclusions. Valentina V. Kosenko agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved; and approved the final version of the article.

**Acknowledgements.** The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022400083-1).

**Конфликт интересов.** В.В. Косенко является главным редактором, Н.Е. Кузьмина — членом редакционной коллегии журнала «Ведомости НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств». Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Conflict of interest.** Valentina V. Kosenko is the Editor-in-Chief and Natalia E. Kuz'mina is a member of the Editorial Board of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. The other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

#### ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Щукин Виктор Михайлович**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9440-0950>  
[Schukin@expmed.ru](mailto:Schukin@expmed.ru)

**Хорольская Елена Александровна**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4813-4740>  
[blinkovaea@expmed.ru](mailto:blinkovaea@expmed.ru)

**Кузьмина Наталия Евгеньевна**, д-р хим. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>  
[KuzminaN@expmed.ru](mailto:KuzminaN@expmed.ru)

**Ремезова Ирина Петровна**, д-р фарм. наук, профессор

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3456-8553>  
[i.p.remezova@pmedpharm.ru](mailto:i.p.remezova@pmedpharm.ru)

**Косенко Валентина Владимировна**, канд. фарм. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8353-7863>  
[General@expmed.ru](mailto:General@expmed.ru)

**Victor M. Shchukin**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9440-0950>  
[Schukin@expmed.ru](mailto:Schukin@expmed.ru)

**Elena A. Khorolskaya**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4813-4740>  
[blinkovaea@expmed.ru](mailto:blinkovaea@expmed.ru)

**Natalia E. Kuz'mina**, Dr. Sci. (Chem.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>  
[KuzminaN@expmed.ru](mailto:KuzminaN@expmed.ru)

**Irina P. Remezova**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3456-8553>  
[i.p.remezova@pmedpharm.ru](mailto:i.p.remezova@pmedpharm.ru)

**Valentina V. Kosenko**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8353-7863>  
[General@expmed.ru](mailto:General@expmed.ru)

Поступила 08.12.2022

После доработки 22.02.2023

Принята к публикации 07.03.2023

Online first 03.05.2023

Received 8 December 2022

Revised 22 February 2023

Accepted 7 March 2023

Online first 3 May 2023



И.М. Моргунов   
Н.П. Антонова   
Е.П. Шефер   
С.С. Прохвятилова   
Т.А. Голомазова 

## Применение метода ВЭТСХ-денситометрии в количественном определении суммы алкалоидов термопсиса экстракта сухого

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

✉ Моргунов Игорь Михайлович; [Morgunov@expmed.ru](mailto:Morgunov@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

Метод ацидиметрического титрования, применяющийся для количественного определения алкалоидов термопсиса экстракта сухого, имеет ряд недостатков, таких как недостаточная специфичность и субъективность в определении конечной точки титрования. В различных частях производящего растения алкалоиды содержатся в разных соотношениях: в траве термопсиса ланцетного преобладает термопсин, а в семенах — цитизин. Различие в фармакологическом действии цитизина и термопсина обуславливает важность идентификации и количественного определения отдельных алкалоидов в термопсиса экстракте сухом.

**Цель работы:** разработать и валидировать методику подтверждения подлинности и количественного определения суммы алкалоидов термопсиса экстракта сухого методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) с денситометрической оценкой результата анализа.

**Материалы и методы:** объектами исследования служили образцы двух опытно-промышленных серий термопсиса экстракта сухого, стандартные образцы цитизина и термопсина. Хроматографическое разделение проводили с использованием пластинок для ВЭТСХ Silica Gel 60 F<sub>254</sub> 20×10 см (Merck), результаты оценивали на денситометре TLC Scanner 4 (CAMAG®) и обрабатывали с помощью программы winCATS.

**Результаты:** подлинность термопсиса экстракта сухого подтверждена методом спектроденситометрии после ВЭТСХ-разделения. Применение специфического раствора для обработки хроматографических пластинок позволило идентифицировать три доминирующих алкалоида термопсиса (термопсин, цитизин и неидентифицированный алкалоид с  $R_f \approx 0,2$ ), сумма которых составила около 80% от суммы алкалоидов экстракта, и четыре минорных алкалоида. Определено количественное содержание цитизина, термопсина и суммы алкалоидов в пересчете на термопсин.

**Выводы:** разработана и валидирована методика подтверждения подлинности и количественного определения суммы алкалоидов в термопсиса экстракте сухом, позволяющая сократить время выполнения испытания с 4–5 до 2–2,5 ч.

**Ключевые слова:** ВЭТСХ-денситометрия; термопсиса экстракт сухой; цитизин; термопсин; алкалоиды

**Для цитирования:** Моргунов И.М., Антонова Н.П., Шефер Е.П., Прохвятилова С.С., Голомазова Т.А. Применение метода ВЭТСХ-денситометрии в количественном определении суммы алкалоидов термопсиса экстракта сухого. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(2):173–183. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-446>



I.M. Morgunov   
N.P. Antonova   
E.P. Shefer   
S.S. Prokhvatilova   
T.A. Golomazova 

## Determination of the Total Alkaloid Content of Thermopsis Dry Extract by HPTLC-Densitometry

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

✉ Igor M. Morgunov; [Morgunov@expmed.ru](mailto:Morgunov@expmed.ru)

### ABSTRACT

When used to quantify alkaloids in thermopsis dry extract, acidimetric titration has several limitations, including insufficient specificity of the method and arbitrary selection of a titration endpoint. Different parts of the *Thermopsis lanceolata* plant produce alkaloids in different proportions: the herb is rich in thermopsine, whereas the seeds are rich in cytosine. Since thermopsine and cytosine have different pharmacological effects, it is important to identify and quantify individual alkaloids in thermopsis dry extract.

**The aim of the study** was to develop and validate an analytical procedure for identifying and quantifying total alkaloids in thermopsis dry extract by high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) with densitometric detection.

**Materials and methods.** The study included samples from two pilot-scale batches of thermopsis dry extract and reference standards for cytosine and thermopsine. The authors used Merck HPTLC Silica Gel 60 F<sub>254</sub> 20×10 cm plates for chromatographic separation and analysed the results with a CAMAG® TLC Scanner 4 densitometer and the winCATS software.

**Results.** The authors identified thermopsis dry extract using HPTLC separation followed by spectrodensitometry. The alkaloid-specific solution applied to chromatography plates helped to identify the three most abundant and four minor alkaloids of thermopsis. The most abundant alkaloids were thermopsine, cytosine, and an unidentified alkaloid with a retention factor of approximately 0.2. These three alkaloids accounted for almost 80% of the total alkaloid content of the dry extract. The authors quantified cytosine, thermopsine, and total alkaloids expressed as thermopsine.

**Conclusions.** The authors developed and validated an analytical procedure for identifying and quantifying total alkaloids in thermopsis dry extract. This procedure offers the possibility of reducing the analysis time from 4–5 hours to 2–2.5 hours.

**Key words:** HPTLC-densitometry; thermopsis dry extract; cytosine; thermopsine; alkaloids

**For citation:** Morgunov I.M., Antonova N.P., Shefer E.P., Prokhvatilova S.S., Golomazova T.A. Determination of the total alkaloid content of thermopsis dry extract by HPTLC-densitometry. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):173–183. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-446>

### Введение

Термопсиса экстракт сухой применяется в медицинской практике в качестве отхаркивающего средства и входит в состав таких препаратов, как «Микстура от кашля для взрослых сухая», «Термопсол®», таблетки от кашля», «Коделак® Бронхо, таблетки», «Коделак® фито, эликсир». Термопсиса ланцетного травы экстракт жидкий в своем составе содержат «Амтерсол® сироп», «Термопсиса сироп с солодкой».

Термопсиса экстракт получают путем экстракции водой из травы термопсиса ланцетного – *Thermopsis lanceolata* R. Br., сем. бобовых – *Fabaceae*, собранной в начале цветения до появления плодов. В траве термопсиса

ланцетного преобладает алкалоид хинолизидиновой группы термопсин, обеспечивающий отхаркивающий эффект препаратов. Алкалоиды хинолизидиновой группы раздражают рецепторы желудка, вследствие чего рефлекторно усиливают секрецию бронхиальных желез, что сопровождается уменьшением вязкости мокроты, стимулируют перистальтические сокращения бронхов и повышают активность ресничек мерцательного эпителия слизистой оболочки, способствуя выделению мокроты [1, 2].

Качественное и количественное содержание алкалоидов в термопсисе ланцетном в различных частях растения отличается, так в траве

преобладает термопсин, а в семенах — цитизин. Источником цитизина также служит трава термопсиса другого вида — термопсиса очередно-цветкового.

Алкалоид цитизин входит в состав препаратов, применяемых для облегчения отвыкания от курения, и лекарственных средств, возбуждающих дыхательный центр [3]. Различие в фармакологическом действии алкалоидов обуславливает важность идентификации отдельных алкалоидов в термопсиса экстракте сухом.

К основным алкалоидам хинолизидиновой группы относятся пахикарпин, термопсин, цитизин, метилцитизин, анагин, термопсидин [4, 5]:



Для количественного определения суммы алкалоидов в термопсиса экстракте сухом согласно зарегистрированным нормативным документам используется метод ацидиметрического титрования по аналогии с указанным в фармакопейной статье «Термопсиса ланцетного трава»<sup>1</sup> с модификациями в части используемых индикаторов. Метод основан на том, что алкалоиды после экстракции неполярными растворителями в виде оснований вступают в реакцию с хлористоводородной кислотой. Данный метод не является специфичным, так как позволяет определить содержание органических оснований в извлечении из препарата, к которым относятся не только алкалоиды, но и различные аминокислоты, биологически активные амины и прочие основания. Идентифицировать отдельные алкалоиды не представляется возможным. В качестве титранта используют 0,05 М раствор хлористоводородной кислоты, который получают разбавлением 1 М или 0,5 М раствора хлористоводородной кислоты, что дополнительно вносит ошибку в результаты количественного определения. В качестве индикатора используют смесь метиленового синего и метилового красного, интервал перехода окраски: от зеленого

до сине-фиолетового. При этом испытуемый раствор имеет желтую окраску, и определение конечной точки титрования очень субъективно, что также вносит ошибку в результаты.

Цель работы — разработать и валидировать методику подтверждения подлинности и количественного определения суммы алкалоидов термопсиса экстракта сухого методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) с денситометрической оценкой результата анализа.

### Материалы и методы

Объектами исследования служили образцы двух опытно-промышленных серий (№ 1 и 2) лекарственного средства «Термопсиса экстракт сухой» отечественного производителя со сроком годности до 06.2023 и 03.2023 соответственно. В качестве стандартных образцов (СО) использовали цитизин (98%, TRC, кат. № C998500, CAS 485-35-8) и термопсин (97,55%, WuXi AppTec, CAS 486-90-8).

Экспериментальная часть исследования включала идентификацию алкалоидов в термопсиса экстракте сухом методом ВЭТСХ с денситометрической оценкой и количественное определение суммы алкалоидов в пересчете на термопсин в термопсиса экстракте сухом методом титрования и спектроденситометрии с использованием СО.

Для приготовления испытуемого раствора точную навеску экстракта массой около 1 г помещали в колбу Эрленмейера со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 20 мл хлороформа, 1 мл раствора аммиака 32% и 1 мл воды. Перемешивали 20 мин на орбитальном шейкере. К содержимому колбы добавляли 2 г натрия сульфата безводного и тщательно перемешивали. Содержимое колбы фильтровали через предварительно промытый хлороформом зольный фильтр «черная лента» с 3 г натрия сульфата безводного в круглодонную колбу объемом 250 мл. Колбу ополаскивали хлороформом еще два раза по 10 мл, полученные извлечения фильтровали в ту же круглодонную колбу. Фильтрат выпаривали досуха на ротационном испарителе при 40 °С.

Для количественного определения методом титрования полученный остаток растворяли в 5 мл этанола 95% и добавляли 25 мл воды. В качестве индикатора использовали смесь метиленового синего и метилового красного и титровали 0,05 М раствором хлористоводородной кислоты

<sup>1</sup> РФС.2.5.0096.18 Термопсиса ланцетного трава. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

до сине-фиолетовой окраски. Количество суммы алкалоидов в пересчете на термопсин, соответствующее 1 мл 0,05 М раствора хлористоводородной кислоты, составляло 0,0122 г.

Для идентификации и количественного определения методом ВЭТСХ и спектроденситометрии сухой остаток растворяли в 10 мл метанола. Стандартный раствор готовили, растворяя 25 мг цитизина и 12,5 мг термопсина в 50 мл метанола.

Для обработки хроматограмм использовали раствор обнаруживающего реагента, который готовили следующим образом: к 0,12 г висмута нитрата основного прибавляли 25 мл уксусной кислоты ледяной и тщательно перемешивали. 3 г калия йодида растворяли в 5 мл воды, полученные растворы смешивали и прибавляли 220 мл метанола. При образовании осадка раствор выдерживали на ультразвуковой бане до растворения осадка.

На хроматографическую пластину для ВЭТСХ Silica gel 60 F<sub>254</sub> 20×10 см (Merck, кат. № 105642) на расстоянии 1 см от нижнего края пластинки наносили по 2, 4, 8, 12, 16, 20 мкл стандартного раствора и 15 мкл испытуемого раствора в трех повторностях по две аппликации в виде полос длиной 8 мм. Пластинку помещали в предварительно насыщенную в течение 1 ч камеру для хроматографии. Подвижная фаза представляла собой смесь: хлороформ–метанол–аммиак раствор 32% в соотношении 20:3:0,5 (об./об.).

После прохождения фронтом подвижной фазы 4 см от линии старта пластинку вынимали и высушивали в вытяжном шкафу до исчезновения следов растворителей. Затем пластинку обрабатывали раствором обнаруживающего реагента методом погружения и высушивали в потоке горячего воздуха в течение 2–3 мин. Сканировали обработанную пластинку на денситометре TLC Scanner 4 (CAMAG®) при длине волны 520 нм и щели «микро 6×0,1 мм». Интегрирование полученных хроматограмм проводили в режиме ручной коррекции базовой линии и обрабатывали с помощью программы winCATS.

Содержание суммы алкалоидов ( $X$ , %) с использованием стандартов термопсина и цитизина рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{C + T + (T \times (S_{\Sigma \text{пиков}} - ST - SC) / ST)}{a \times (100 - W)} \times 10000, (1)$$

где  $C$  — содержание цитизина в навеске экстракта, рассчитанное с помощью программного обеспечения, мг;  $T$  — содержание термопсина в навеске экстракта, рассчитанное с помощью

программного обеспечения, мг;  $S_{\Sigma \text{пиков}}$  — сумма площадей всех пиков на хроматограмме;  $SC$  — площадь пика цитизина;  $ST$  — площадь пика термопсина;  $a$  — навеска экстракта, мг;  $W$  — влажность, %.

Расчет содержания цитизина и термопсина в процентах проводили методом абсолютной градуировки по результатам анализа шести различных концентраций стандартного раствора по формуле:

$$X = \frac{A}{a \times (100 - W)} \times 10000, (2)$$

где  $A$  содержание определяемого вещества, рассчитанное с помощью программного обеспечения, мг;  $a$  — навеска экстракта, мг;  $W$  — влажность, %.

### Результаты и обсуждение

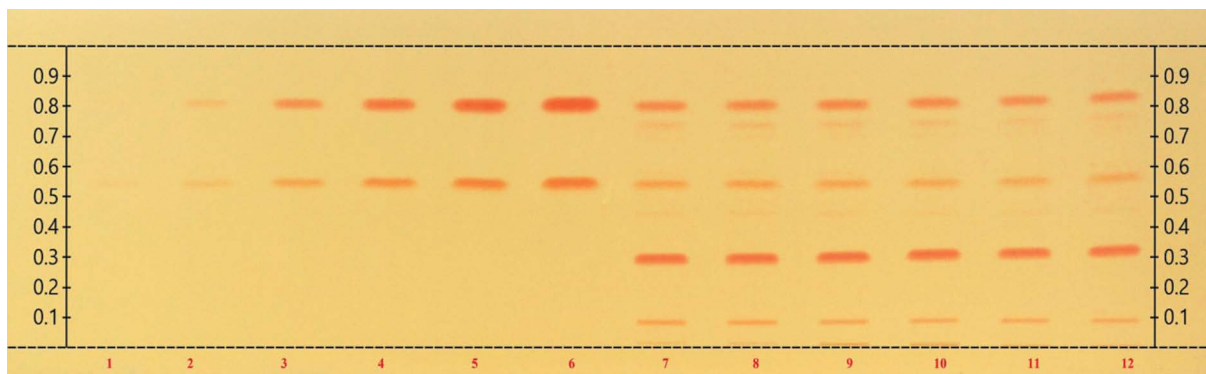
На хроматограмме испытуемого раствора обнаружено 7 зон адсорбции алкалоидов. Зона адсорбции с  $R_f \approx 0,45$  соответствует цитизину, зона адсорбции с  $R_f \approx 0,8$  — термопсину (рис. 1). Сканирование пластинки проводили при длине волны 520 нм, что соответствует максимумам поглощения в спектрах зон адсорбции термопсина и цитизина (рис. 2, 3).

При сканировании хроматограмм в УФ-области до обработки раствором обнаруживающего реагента на хроматограмме испытуемого раствора обнаружено порядка 30 зон адсорбции с флуоресценцией синего цвета, при этом установить, к какому классу соединений они относятся, было практически невозможно (рис. 4).

После обработки хроматограммы обнаруживающим реагентом установлено, что термопсин, цитизин и неидентифицированный алкалоид с  $R_f \approx 0,2$  являются доминирующими алкалоидами в препарате, сумма площадей их пиков составляет около 80% от суммы площадей всех пиков алкалоидов (табл. 1, рис. 5, 6).

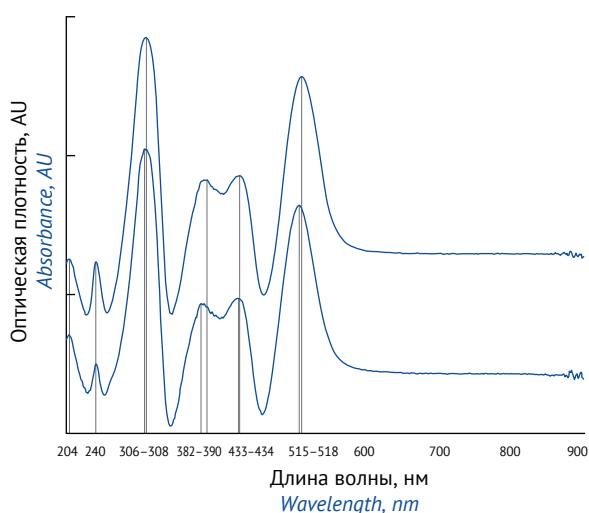
Площадь пика термопсина на хроматограмме составляет около 30%, площадь пика цитизина — около 21,5% от суммы площадей всех пиков, однако при пересчете с учетом интенсивности поглощения данных веществ содержание цитизина в препарате больше, чем содержание термопсина, приблизительно в 1,5 раза (табл. 2, 3).

Различия во взаимодействии цитизина и термопсина с раствором обнаруживающего реагента предположительно связаны с наличием двух третичных аминогрупп в молекуле термопсина и, соответственно, более сильными основными



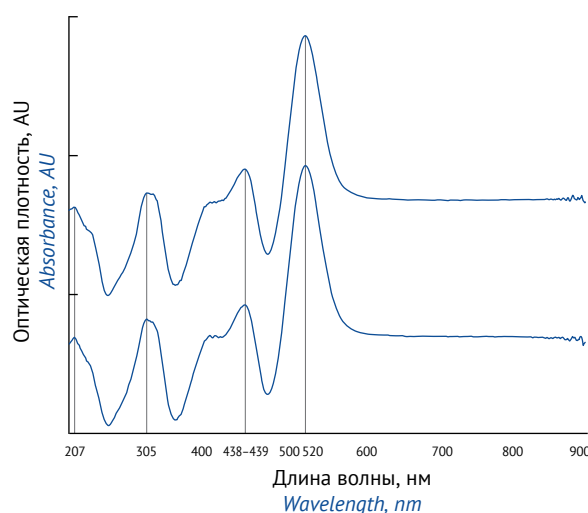
**Рис. 1.** Хроматограмма после обработки раствором обнаруживающего реагента в видимой области спектра: 1–6 – растворы стандартных образцов (СО) цитизина и термопсина 2, 4, 8, 12, 16 и 20 мкл, соответственно; 7–8 – испытуемый раствор № 1, 15 мкл; 9–10 – испытуемый раствор № 2, 15 мкл; 11–12 – испытуемый раствор № 3, 15 мкл.

**Fig. 1.** Chromatogram obtained with the detection reagent solution in the visible spectrum: 1–6, solutions of cytosine and thermopsine reference standards (2, 4, 8, 12, 16, and 20 µL, respectively); 7–8, test solution 1 (15 µL); 9–10, test solution 2 (15 µL); 11–12, test solution 3 (15 µL).



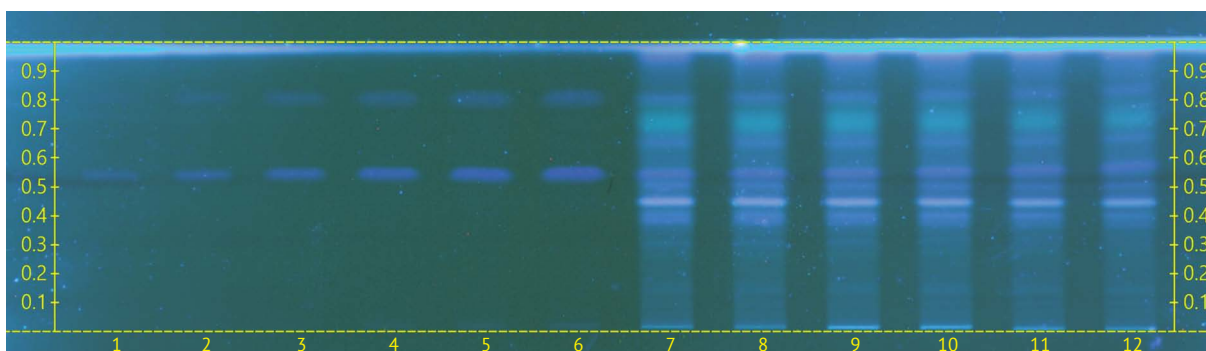
**Рис. 2.** Спектры зон адсорбции цитизина (вверху спектр стандартного раствора, внизу – испытуемого раствора)

**Fig. 2.** Spectra of cytosine spots (top: reference solution; bottom: test solution)



**Рис. 3.** Спектры зон адсорбции термопсина (вверху спектр стандартного раствора, внизу – испытуемого раствора)

**Fig. 3.** Spectra of thermopsine spots (top: reference solution; bottom: test solution)



**Рис. 4.** Хроматограмма до обработки обнаруживающим реагентом, просмотр в УФ-области спектра при длине волны 365 нм: 1–6 – растворы стандартных образцов (СО) цитизина и термопсина 2, 4, 8, 12, 16 и 20 мкл соответственно; 7–8 – испытуемый раствор № 1, 15 мкл; 9–10 – испытуемый раствор № 2, 15 мкл; 11–12 – испытуемый раствор № 3, 15 мкл.

**Fig. 4.** Chromatogram obtained without the detection reagent solution in the UV spectrum at  $\lambda=365$  nm: 1–6, solutions of cytosine and thermopsine reference standards (2, 4, 8, 12, 16, and 20 µL, respectively); 7–8, test solution 1 (15 µL); 9–10, test solution 2 (15 µL); 11–12, test solution 3 (15 µL).

**Таблица 1.** Площади пиков на хроматограмме испытуемого раствора

**Table 1.** Peak areas in the test solution chromatogram

| $R_f$ | Площадь пика*, %<br>Peak area*, % | Наименование компонента<br>Component name |
|-------|-----------------------------------|-------------------------------------------|
| 0,026 | 9,17                              | –                                         |
| 0,194 | <b>29,05</b>                      | –                                         |
| 0,355 | 3,49                              | –                                         |
| 0,469 | <b>21,51</b>                      | цитизин<br>cytisine                       |
| 0,666 | 1,51                              | –                                         |
| 0,717 | 5,40                              | –                                         |
| 0,764 | <b>29,87</b>                      | термопсин<br>thermopsine                  |

**Примечание.** «–» – неидентифицированное соединение.

\* – жирным шрифтом выделены площади пиков преобладающих компонентов.

**Note.** –, unidentified compound.

\* Peak areas of the most abundant components are highlighted in bold.

**Таблица 2.** Соотношение площадей пиков цитизина и термопсина на хроматограммах стандартного раствора

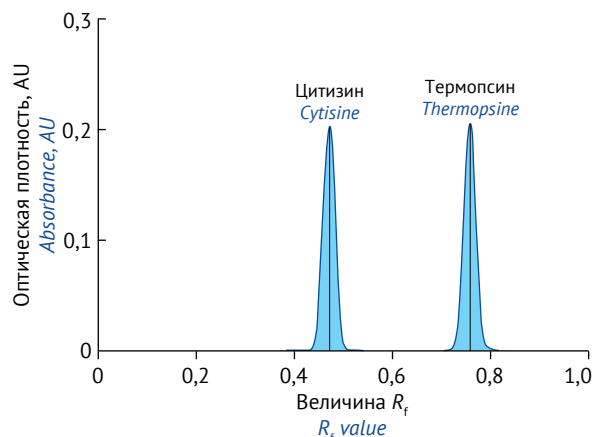
**Table 2.** Cytisine-to-thermopsine peak area ratio in the reference solution chromatograms

| Объем нанесения, мкл<br>Application volume, $\mu$ L | Соотношение площадей пиков цитизин/термопсин<br>Cytisine/thermopsine peak area ratio | Среднее значение соотношения площадей пиков цитизин/термопсин<br>Mean cytisine/thermopsine peak area ratio |
|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4                                                   | 41,2/58,8                                                                            | 48,6/51,4                                                                                                  |
| 8                                                   | 48,4/51,6                                                                            |                                                                                                            |
| 12                                                  | 45,3/54,7                                                                            |                                                                                                            |
| 16                                                  | 45,5/54,5                                                                            |                                                                                                            |
| 20                                                  | 45,0/55,0                                                                            |                                                                                                            |

**Примечание.** Концентрация цитизина в стандартном растворе – 501,20 мкг/мл, термопсина – 250,40 мкг/мл.

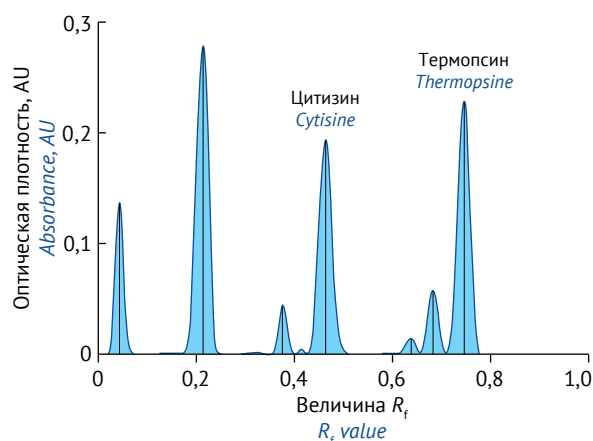
**Note.** The concentration of cytisine in the reference solution is 501.20  $\mu$ g/mL, and that of thermopsine is 250.40  $\mu$ g/mL.

свойствами, чем характерно для цитизина, в молекуле которого присутствует одна вторичная аминогруппа и одна третичная аминогруппа. Концентрация цитизина в стандартном растворе в два раза больше, чем концентрация термопсина, при этом в аналитической области измерений площадь пика термопсина практически равна площади пика цитизина. Из этого следует, что расчет суммы алкалоидов в препарате необходимо проводить при использовании двух стандартов.



**Рис. 5.** Хроматограмма стандартного раствора (сканирование при длине волны 520 нм, объем пробы при нанесении на пластинку – 8 мкл)

**Fig. 5.** Reference solution chromatogram (detection wavelength: 520 nm; application volume: 8  $\mu$ L)



**Рис. 6.** Хроматограмма испытуемого раствора (сканирование при длине волны 520 нм)

**Fig. 6.** Test solution chromatogram (detection wavelength: 520 nm)

Ввиду отсутствия данных о взаимодействии неидентифицированных алкалоидов с раствором обнаруживающего реагента невозможно однозначно определить их точную концентрацию. Целесообразнее производить расчет суммы алкалоидов в пересчете на термопсин.

Термопсина экстракт получают из травы термопсиса ланцетного, собранной в начале цветения до появления плодов, поэтому преобладающим в данном виде сырья является алкалоид термопсин, который обеспечивает отхаркивающий эффект препаратов на основе травы термопсиса ланцетного. А преобладающим алкалоидом в семенах травы термопсиса ланцетного является цитизин, который входит в состав препаратов, применяемых для облегчения отвыкания от курения и возбуждающих дыхательный центр. Другим источником цитизина служит трава термопсиса



**Таблица 3.** Результаты определения содержания алкалоидов в препарате «Термопсиса экстракт сухой» с использованием различных способов расчета

**Table 3.** Results of quantifying alkaloids in thermopsis dry extract by several calculation methods

| Определяемая группа веществ<br><i>Group of analytes</i>                                                                                                                   | Результаты анализа<br>Серии 1<br>(влажность — 3,7%)<br><i>Results of analysis, batch 1 (Loss on drying: 3.7%)</i> | Среднее<br>значение, $X_{cp}$<br><i>Mean value</i> | Результаты анализа<br>Серии 2<br>(влажность — 2,1%)<br><i>Results of analysis, batch 2 (Loss on drying: 2.1%)</i> | Среднее<br>значение, $X_{cp}$<br><i>Mean value</i> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Титрование<br><i>Titration</i>                                                                                                                                            |                                                                                                                   |                                                    |                                                                                                                   |                                                    |
| Сумма алкалоидов в пересчете<br>на термопсин, %<br><i>Total alkaloids expressed as thermopsine, %</i>                                                                     | 0,980                                                                                                             | 0,983±0,016<br>(RSD=1,54%)                         | 0,971                                                                                                             | 0,984±0,016<br>(RSD=1,52%)                         |
|                                                                                                                                                                           | 0,978                                                                                                             |                                                    | 0,981                                                                                                             |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,990                                                                                                             |                                                    | 1,010                                                                                                             |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,970                                                                                                             |                                                    | 0,990                                                                                                             |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 1,010                                                                                                             |                                                    | 0,985                                                                                                             |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,970                                                                                                             |                                                    | 0,969                                                                                                             |                                                    |
| Спектроденситометрия<br><i>Spectrodensitometry</i>                                                                                                                        |                                                                                                                   |                                                    |                                                                                                                   |                                                    |
| Содержание термопсина, %<br><i>Thermopsine content, %</i>                                                                                                                 | 0,157±0,009                                                                                                       | 0,147±0,034<br>(RSD=3,00%)                         | 0,180±0,031                                                                                                       | 0,171±0,030<br>(RSD=2,73%)                         |
|                                                                                                                                                                           | 0,147±0,018                                                                                                       |                                                    | 0,173±0,009                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,146±0,023                                                                                                       |                                                    | 0,170±0,002                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,143±0,012                                                                                                       |                                                    | 0,168±0,036                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,149±0,019                                                                                                       |                                                    | 0,169±0,013                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,142±0,010                                                                                                       |                                                    | 0,168±0,023                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,149±0,005                                                                                                       |                                                    | 0,168±0,011                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,145±0,005                                                                                                       |                                                    | 0,171±0,025                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,149±0,006                                                                                                       |                                                    | 0,179±0,033                                                                                                       |                                                    |
| Спектроденситометрия<br><i>Spectrodensitometry</i>                                                                                                                        |                                                                                                                   |                                                    |                                                                                                                   |                                                    |
| Содержание цитизина, %<br><i>Cytisine content, %</i>                                                                                                                      | 0,232±0,012                                                                                                       | 0,230±0,0045<br>(RSD=2,54%)                        | 0,253±0,022                                                                                                       | 0,244±0,005<br>(RSD=2,63%)                         |
|                                                                                                                                                                           | 0,230±0,016                                                                                                       |                                                    | 0,244±0,002                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,222±0,027                                                                                                       |                                                    | 0,248±0,014                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,224±0,020                                                                                                       |                                                    | 0,240±0,038                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,234±0,020                                                                                                       |                                                    | 0,235±0,050                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,240±0,027                                                                                                       |                                                    | 0,246±0,012                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,235±0,016                                                                                                       |                                                    | 0,240±0,021                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,227±0,004                                                                                                       |                                                    | 0,238±0,005                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,239±0,011                                                                                                       |                                                    | 0,253±0,004                                                                                                       |                                                    |
| Спектроденситометрия (расчет по стандартному образцу цитизина и термопсина)<br><i>Spectrodensitometry (calculated using cytisine and thermopsine reference standards)</i> |                                                                                                                   |                                                    |                                                                                                                   |                                                    |
| Сумма алкалоидов в пересчете<br>на термопсин, %<br><i>Total alkaloids expressed as thermopsine, %</i>                                                                     | 0,666±0,146                                                                                                       | 0,685±0,015<br>(RSD=2,89%)                         | 0,748±0,060                                                                                                       | 0,726±0,016<br>(RSD=2,95%)                         |
|                                                                                                                                                                           | 0,670±0,032                                                                                                       |                                                    | 0,719±0,055                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,690±0,133                                                                                                       |                                                    | 0,723±0,085                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,655±0,011                                                                                                       |                                                    | 0,740±0,074                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,697±0,019                                                                                                       |                                                    | 0,695±0,074                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,676±0,045                                                                                                       |                                                    | 0,750±0,043                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,697±0,143                                                                                                       |                                                    | 0,745±0,035                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,716±0,111                                                                                                       |                                                    | 0,715±0,010                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,699±0,098                                                                                                       |                                                    | 0,696±0,055                                                                                                       |                                                    |
|                                                                                                                                                                           | 0,708±0,084                                                                                                       |                                                    | 0,686±0,066                                                                                                       |                                                    |

**Примечание.** RSD — относительное стандартное отклонение.

**Note.** RSD, relative standard deviation.

очередноцветкового. Различие в фармакологическом действии цитизина и термопсина обуславливает важность идентификации и количественного определения отдельных алкалоидов в термопсиса экстракте сухом.

Количественное определение цитизина в термопсиса экстракте сухом может позволить оценить качество сырья травы термопсиса ланцетного, в которой основным алкалоидом является термопсин, и контролировать производственный процесс получения экстракта. Установление норм содержания цитизина требует дальнейшего исследования.

Была проведена валидация разработанной методики, подтверждающая ее пригодность для количественного определения суммы алкалоидов в пересчете на термопсин в термопсиса экстракте сухом. Результаты валидации представлены в таблице 4. Для подтверждения специфичности методики использовалась

модельная смесь, состоящая из 23,46 мг цитизина, 15,06 мг термопсина и 9,98 г сахарозы. 1 г модельной смеси подвергали анализу по вышеуказанной методике. Подлинность препарата подтверждали путем визуального осмотра пластины на основании соответствия окраски и величин  $R_f$  зон адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора зонам адсорбции цитизина и термопсина на хроматограмме стандартного раствора.

Разработанная методика позволяет сократить время анализа при использовании метода титрования для количественного определения суммы алкалоидов в сочетании с тонкослойной хроматографией и качественной реакцией на алкалоиды для определения подлинности с 4–5 до 2–2,5 ч за счет выполнения оценки подлинности и количественного определения суммы алкалоидов одним методом ВЭТСХ-денситометрии.

Таблица 4. Результаты валидации методики определения суммы алкалоидов в пересчете на термопсин

Table 4. Validation results for the analytical procedure for quantifying total alkaloids expressed as thermopsine

| Требования<br>Requirements                                                                                                            | Результат<br>Result                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |        |         |         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|---------|---------|
| Специфичность<br>Specificity                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |        |         |         |
| Присутствие сопутствующих компонентов не влияет на результат анализа<br>Related compounds do not inadvertently affect the test result | 1) Спектр зоны адсорбции цитизина испытуемого раствора полностью совпадает по положению максимумов и минимумов поглощения со спектром зоны адсорбции цитизина стандартного раствора.<br>Спектр зоны адсорбции термопсина испытуемого раствора полностью совпадает по положению максимумов и минимумов поглощения со спектром зоны адсорбции термопсина стандартного раствора.<br>The positions of absorption maxima and minima in the spectrum of the cytisine spot of the test solution completely coincide with those of the standard solution.<br>The positions of absorption maxima and minima in the spectrum of the thermopsine spot of the test solution completely coincide with those of the standard solution. |        |         |         |
|                                                                                                                                       | 2) Истинные значения содержания цитизина (0,234 мг/г) и термопсина (0,151 мг/г) в модельной смеси лежат в пределах границ доверительных интервалов результатов анализа содержания цитизина и термопсина в модельной смеси<br>The true content of cytisine (0.234 mg/g) and thermopsine (0.151 mg/g) in the spiked mixture falls within the confidence limits for the measured content of cytisine and thermopsine in the spiked mixture                                                                                                                                                                                                                                                                                  |        |         |         |
|                                                                                                                                       | Навеска модельной смеси, мг<br>Accurately weighed spiked mixture, mg                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 999,65 | 1001,14 | 1001,78 |
|                                                                                                                                       | Содержание цитизина, %<br>Cytisine content, %                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 0,232  | 0,237   | 0,223   |
|                                                                                                                                       | $X_{cp}=0,23067$ $f=2$ $t(P, f)=4,30$<br>$s^2=0,00005$ , $s=0,00709$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |        |         |         |
|                                                                                                                                       | Доверительный интервал / Confidence interval: $\pm 0,01761$ ( $P=95\%$ , $\alpha=0,05$ )<br>Границы доверительного интервала / Confidence limits: 0,21306–0,24828                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |        |         |         |
|                                                                                                                                       | Содержание термопсина, %<br>Thermopsine content, %                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 0,155  | 0,145   | 0,151   |
|                                                                                                                                       | $X_{cp}=0,15033$ $f=2$ $t(P, f)=4,30$<br>$s^2=0,00031$ , $s=0,00503$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |        |         |         |
|                                                                                                                                       | Доверительный интервал / Confidence interval: $\pm 0,01252$ ( $P=95\%$ , $\alpha=0,05$ )<br>Границы доверительного интервала / Confidence limits: 0,13784–0,16283                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |        |         |         |

Продолжение таблицы 4

Table 4 (continued)

| Требования<br><i>Requirements</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Результат<br><i>Result</i>                                                                                                                                                                                                                                   |     |                                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|----------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Линейность<br><i>Linearity</i>                                                                                                                                                                                                                               |     |                                  |
| Результаты измерений аналитических сигналов 6 проб с различным содержанием определяемого алкалоида обработаны методом наименьших квадратов с использованием линейной модели<br><i>Measurements of analytical responses from 6 samples containing different test alkaloid levels should be analysed using the least-squares method and the linear model</i><br>Коэффициент корреляции<br><i>Correlation coefficient:</i><br>$r \geq 0,99$ | Уравнение прямой для цитизина / <i>Line equation for cytosine:</i><br>$Y=0,0015x+0,001$ ( $r=0,9903$ )                                                                                                                                                       |     |                                  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Нанесено цитизина<br><i>Cytisine applied</i>                                                                                                                                                                                                                 |     | Площадь пика<br><i>Peak area</i> |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | мкг / $\mu\text{g}$                                                                                                                                                                                                                                          | %   |                                  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 1,0016                                                                                                                                                                                                                                                       | 25  | 0,00203                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 2,0032                                                                                                                                                                                                                                                       | 50  | 0,00412                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 4,0064                                                                                                                                                                                                                                                       | 100 | 0,00730                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 6,0096                                                                                                                                                                                                                                                       | 150 | 0,01088                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 8,0128                                                                                                                                                                                                                                                       | 200 | 0,01364                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 10,016                                                                                                                                                                                                                                                       | 250 | 0,01562                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Уравнение прямой для термопсина / <i>Line equation for thermopsine:</i><br>$Y=0,0039x-0,0008$ ( $r=0,9939$ )                                                                                                                                                 |     |                                  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Нанесено цитизина<br><i>Cytisine applied</i>                                                                                                                                                                                                                 |     | Площадь пика<br><i>Peak area</i> |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | мкг / $\mu\text{g}$                                                                                                                                                                                                                                          | %   |                                  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0,54148                                                                                                                                                                                                                                                      | 25  | 0,00089                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 1,08296                                                                                                                                                                                                                                                      | 50  | 0,00301                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 2,16592                                                                                                                                                                                                                                                      | 100 | 0,00811                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 3,24888                                                                                                                                                                                                                                                      | 150 | 0,01219                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 4,33184                                                                                                                                                                                                                                                      | 200 | 0,01646                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 5,4148                                                                                                                                                                                                                                                       | 250 | 0,01936                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Аналитическая область<br><i>Range</i>                                                                                                                                                                                                                        |     |                                  |
| Методика применима в интервале 80–120% от номинального значения содержания цитизина и термопсина<br><i>The procedure is applicable in the range from 80 to 120% of the nominal cytosine and thermopsine contents</i>                                                                                                                                                                                                                     | Соответствует на основании данных по изучению линейности<br><i>The linearity data confirm that the result conforms to the requirements</i>                                                                                                                   |     |                                  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Правильность<br><i>Trueness</i>                                                                                                                                                                                                                              |     |                                  |
| Свободный член уравнения меньше своего доверительного интервала<br><i>The y-intercept of the linear equation is less than its confidence interval</i><br>$\Delta a=t(0,05, n-2) \times s_a$<br>$a \leq \Delta a$                                                                                                                                                                                                                         | На основании данных по изучению линейности<br><i>Based on the linearity data</i><br>Расчет для цитизина / <i>Calculations for cytosine:</i><br>$a=0,001$<br>$s_a=0,00461$<br>$t(0,95, n-2)=2,78$<br>$\Delta a=2,78 \times 0,00461=0,01282$<br>$a < \Delta a$ |     |                                  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Расчет для термопсина / <i>Calculations for thermopsine:</i><br>$a=0,0008$<br>$s_a=0,00038$<br>$t(0,95, n-2)=2,78$<br>$\Delta a=2,78 \times 0,00038=0,00106$<br>$a < \Delta a$                                                                               |     |                                  |

Продолжение таблицы 4

Table 4 (continued)

| Требования<br><i>Requirements</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Результат<br><i>Result</i>                                                                                                  |                                    |                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Прецизионность и повторяемость<br><i>Precision and repeatability</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                             |                                    |                                    |
| RSD результатов 9 определений количественного содержания суммы алкалоидов в пересчете на термопсин должно быть не более 3,0%<br><i>The RSD for 9 determinations of total alkaloid content expressed as thermopsine is ≤3.0%</i>                                                                                                                                                      | № определения<br><i>Determination No.</i>                                                                                   | Исполнитель 1<br><i>Operator 1</i> | Исполнитель 2<br><i>Operator 2</i> |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 1                                                                                                                           | 0,68                               | 0,71                               |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 2                                                                                                                           | 0,71                               | 0,72                               |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 3                                                                                                                           | 0,68                               | 0,72                               |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | s                                                                                                                           | 0,01732                            | 0,00577                            |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | s <sup>2</sup>                                                                                                              | 0,00030                            | 0,00003                            |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | X <sub>серия 1</sub> = 0,685±0,015%<br>RSD=2,89%<br>X <sub>серия 2</sub> = 0,726±0,016%<br>RSD=2,95%                        |                                    |                                    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                             |                                    |                                    |
| Внутрилабораторная прецизионность<br><i>Intermediate precision</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                             |                                    |                                    |
| Полученное значение критерия Фишера, вычисленное по результатам проведения испытаний разными исполнителями на разном оборудовании, должно быть меньше табличного значения<br><i>The F-test value calculated from the results obtained by different operators with different equipment is less than the critical value</i><br>$F_{\text{практ}} = s_1^2 / s_2^2 \leq F_{\text{теор}}$ | $F_{\text{практ}} = 0,00030 / 0,00003 = 1,11$<br>$F_{\text{теор}}(0,05; 2; 2) = 19,00$ $F_{\text{практ}} < F_{\text{теор}}$ |                                    |                                    |

**Примечание.** X<sub>ср</sub> — среднее значение определяемой величины; P — доверительная вероятность; f — число степеней свободы; t(0,95; n-2) — коэффициент Стьюдента, где 0,95 — вероятность, F<sub>практ</sub>, F<sub>теор</sub>(0,05; 2; 2) — полученный и табличный критерии Фишера соответственно, где 0,05 — уровень значимости, 2 и 2 — число степеней свободы; s<sup>2</sup> — дисперсия; s — стандартное отклонение; s<sub>1</sub>, s<sub>2</sub> — большее и меньшее стандартные отклонения полученных результатов соответственно; a — свободный член линейной зависимости, s<sub>a</sub> — стандартное отклонение свободного члена, RSD — относительное стандартное отклонение (%).

**Note.** X<sub>ср</sub>, mean of the measured values; X<sub>серия 1</sub> and X<sub>серия 2</sub>, mean values for batches 1 and 2; P, confidence level; f, number of degrees of freedom; t, Student's t-test (probability=0.95; n=2); F<sub>практ</sub> and F<sub>теор</sub>, calculated and critical Fisher's test values, respectively (significance level=0.05; number of degrees of freedom=2); s<sup>2</sup>, variance; s, standard deviation; s<sub>1</sub> and s<sub>2</sub>, standard deviations of test results, the highest and the lowest, respectively; a, y-intercept; s<sub>a</sub>, standard deviation of the y-intercept; RSD, relative standard deviation (%).

## Выводы

1. Разработана и валидирована методика подтверждения подлинности и количественного определения суммы алкалоидов в термопсиса экстракте сухом методом ВЭТСХ с денситометрической оценкой результатов анализа.

2. Использование стандартных образцов и специфичного реактива для идентификации алкалоидов позволило обнаружить три доминирующих алкалоида термопсиса (термопсин, цитизин и неидентифицированный алкалоид с R<sub>f</sub> ≈ 0,2), содержание которых составило около 80% от суммы алкалоидов экстракта, и четыре алкалоида, содержание которых было незначительным.

3. Содержание цитизина имеет важное значение для оценки качества сырья, используемого для производства экстракта термопсиса сухого, предназначенного для производства отхаркивающих препаратов.

4. Одновременное определение подлинности и содержания суммы алкалоидов в термопсиса экстракте сухом с использованием предложенной методики ВЭТСХ-денситометрии позволяет сократить время выполнения испытания с 4–5 до 2–2,5 ч.

В Федеральную службу по интеллектуальной собственности подана заявка № 2022132871 от 15.12.2022 на выдачу патента Российской Федерации на изобретение «Способ определения алкалоидов в экстракте термопсиса».

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Косарев ВВ, Бабанов СА. Отхаркивающие препараты. *Медицинская сестра*. 2011;(5):40–5. Kosarev VV, Babanov SA. Expectorants. *Nurse*. 2011;(5):40–5 (In Russ.). EDN: [OBUTMN](#)
2. Ложкин ЮГ, Андреева ДМ, Давыдова ВН. Отхаркивающие средства растительного происхождения. *Фармация*. 2013;(2):52–6. Lozhkin YuG, Andreeva DM, Davydova VN. Herbal expectorants. *Pharmacy*. 2013;(2):52–6 (In Russ.). EDN: [PXKGJV](#)
3. Быков ВА, ред. Атлас лекарственных растений России. М.: ВИЛАР; 2006. Bykov VA, ed. Atlas of medicinal plants of Russia. Moscow: VILAR; 2006 (In Russ.).
4. Цыпышева ИП, Галкин ЕГ, Ерастов АС, Каримова ОА, Байкова ИП, Рахимов РГ и др. Растительные источники хинолизидиновых алкалоидов на территории Республики Башкортостан. I. Алкалоиды *Thermopsis schischkinii* и *Thermopsis lanceolata* ssp. *Sibirica* (Fabaceae) в условиях интродукции. *Химия растительного сырья*. 2012;(4):181–6. Tsypysheva IP, Galkin EG, Erastov AS, Karimova OA, Baikova IP, Rakhimov RG, et al. The search of quino-  
lizidine alkaloids plant sources in the territory of the Republic of Bashkortostan. I. Alkaloids of *Thermopsis schischkinii* and *Thermopsis lanceolata* ssp. *Sibirica* (Fabaceae) under conditions of cultivation. *Chemistry of Plant Raw Material*. 2012;(4):181–6 (In Russ.). EDN: [PWEAZD](#)
5. Панова ЕП, Владимировна ОВ, Куриленко МИ, Дряглина ЛП. Судебно-химическое определение тропикамида. В кн.: Ардашкин АП, ред. *Вопросы судебной медицины, медицинского права и биоэтики*. Самара: Офорт; 2011. С. 159–69. Panova EP, Vladimirova OV, Kurylenko MI, Dryaglina LP. Forensic chemical determination of tropicamide. In: Ardashkin AP, ed. *Issues of forensic medicine, medical law and bioethics*. Samara: Ofort; 2011. P. 159–69 (In Russ.).

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: И.М. Моргунов — идея работы, выполнение экспериментальной части исследований по количественному определению суммы алкалоидов термопсиса экстракта сухого, написание текста рукописи; Н.П. Антонова — консультация по вопросам проведения отдельных этапов экспериментальных работ; Е.П. Шефер — разработка дизайна валидационного исследования и обработка его результатов; С.С. Прохвятилова — сбор, анализ и обобщение данных литературы; Т.А. Голомазова — выполнение экспериментальной части исследований.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Igor M. Morgunov elaborated the study idea, conducted the experiments for quantitative determination of total alkaloids in thermopsis dry extract, and drafted the manuscript. Nataliya P. Antonova consulted the research team on individual steps of experimental work. Elena P. Shefer designed the method validation study and processed its results. Svetlana S. Prokhvatilova collected, analysed, and consolidated literature data. Tatiana A. Golomazova conducted experiments.

**Acknowledgements.** The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Моргунов Игорь Михайлович**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3907-3456>  
[Morgunov@expmed.ru](mailto:Morgunov@expmed.ru)

**Антонова Наталия Петровна**, канд. биол. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7818-5303>  
[nantonova@expmed.ru](mailto:nantonova@expmed.ru)

**Шефер Елена Павловна**, канд. фарм. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8389-4799>  
[shefer@expmed.ru](mailto:shefer@expmed.ru)

**Прохвятилова Светлана Степановна**, канд. фарм. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3278-1994>  
[prokhvatilova@expmed.ru](mailto:prokhvatilova@expmed.ru)

**Голомазова Татьяна Александровна**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9917-9367>  
[golomazovata@expmed.ru](mailto:golomazovata@expmed.ru)

**Igor M. Morgunov**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3907-3456>  
[Morgunov@expmed.ru](mailto:Morgunov@expmed.ru)

**Natalia P. Antonova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7818-5303>  
[nantonova@expmed.ru](mailto:nantonova@expmed.ru)

**Elena P. Shefer**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8389-4799>  
[shefer@expmed.ru](mailto:shefer@expmed.ru)

**Svetlana S. Prokhvatilova**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3278-1994>  
[prokhvatilova@expmed.ru](mailto:prokhvatilova@expmed.ru)

**Tatiana A. Golomazova**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9917-9367>  
[golomazovata@expmed.ru](mailto:golomazovata@expmed.ru)

Поступила 05.04.2022

После доработки 23.06.2022

Принята к публикации 21.11.2022

Online first 14.04.2023

Received 5 April 2022

Revised 23 June 2022

Accepted 21 November 2022

Online first 14 April 2023





Т.А. Голомазова   
Е.П. Шефер   
С.С. Прохвятилова   
Н.П. Антонова 

## Определение аскорбиновой кислоты в лекарственных растительных препаратах методом ВЭЖХ

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](mailto:golomazovata@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

Аскорбиновая кислота (витамин С) участвует во многих биохимических процессах в организме человека, необходимых для его жизнедеятельности. Одним из природных источников витамина С являются плоды шиповника, которые применяются в виде отваров и являются компонентом многих витаминных сборов. Методы количественного определения аскорбиновой кислоты, включенные в фармакопейные статьи Государственной фармакопеи Российской Федерации, имеют ряд недостатков, что не позволяет объективно оценить содержание аскорбиновой кислоты в лекарственном растительном сырье (ЛРС) и лекарственных растительных препаратах (ЛРП).

**Цель работы:** разработка методики количественного определения аскорбиновой кислоты в ЛРС и ЛРП методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

**Материалы и методы.** Объектами исследования служили лекарственные растительные препараты «Плоды шиповника» и «Витаминный сбор № 2», стандартные образцы аскорбиновой кислоты, рутозида, кверцетина, галловой кислоты, кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты, лютеолин-7-глюкозида, лимонной кислоты, DL-яблочной кислоты, тиамина и пиридоксина гидрохлорида. Исследование проводили с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity II с диодно-матричным детектором. Хроматографическая колонка GL Sciences Inc, Inertsil ODS-3 250 мм × 4,6 мм × 5 мкм, режим подачи подвижной фазы градиентный, аналитическая длина волны 244 нм.

**Результаты:** аскорбиновая кислота может быть количественно определена в ЛРС и ЛРП методом ВЭЖХ. Надлежащие условия пробоподготовки и хроматографирования позволяют ингибировать процессы окисления аскорбиновой кислоты в водных растворах на время, достаточное для проведения полного испытания (не менее 8 ч).

**Выводы:** разработана высокочувствительная и селективная методика количественного определения аскорбиновой кислоты методом ВЭЖХ для стандартизации ЛРС/ЛРП, которая может быть рекомендована для включения в ФС «Шиповника плоды» и «Витаминный сбор № 2». Норму содержания аскорбиновой кислоты («не менее 0,2%») в ЛРС/ЛРП «Шиповника плоды» и ЛРП «Витаминный сбор № 2», установленную с помощью титриметрического метода, не рекомендуется снижать при переходе на использование метода ВЭЖХ. Проблема заниженного содержания аскорбиновой кислоты в подавляющем количестве испытуемых образцов шиповника, возможно, связана с использованием низковитаминных видов шиповника секции *Rosa caninae*, которые должны применяться только как желчегонное средство.

**Ключевые слова:** шиповника плоды; аскорбиновая кислота; витамин С; ВЭЖХ; высокоэффективная жидкостная хроматография; витаминный сбор; лекарственные растительные препараты

**Для цитирования:** Голомазова Т.А., Шефер Е.П., Прохвятилова С.С., Антонова Н.П. Определение аскорбиновой кислоты в лекарственных растительных препаратах методом ВЭЖХ. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(2):184–194. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-458>

T.A. Golomazova ✉   
E.P. Shefer   
S.S. Prokhvatilova   
N.P. Antonova 

## Quantitative Determination of Ascorbic Acid in Herbal Medicinal Products by HPLC

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

✉ Tatyana A. Golomazova; [golomazovata@expmed.ru](mailto:golomazovata@expmed.ru)

### ABSTRACT

Ascorbic acid (vitamin C) is involved in many vital biochemical processes in the human body. Rose hips are a natural source of ascorbic acid. Rose hips are used in decoctions and many vitamin herbal teas. Russian compendial methods for the quantitative determination of ascorbic acid have certain limitations precluding its objective measurement in herbal drugs, herbal drug preparations, and herbal medicinal products.

**The aim of the study** was to develop an analytical procedure for the quantitative determination of ascorbic acid in herbal drugs, herbal medicinal preparations, and herbal medicinal products using high performance liquid chromatography (HPLC).

**Materials and methods.** The study involved two herbal medicinal products, Rose Hips (rose hips) and Vitamin Herbal Tea 2 (rose hips and rowan fruits), and reference standards for ascorbic acid, rutoside, quercetin, gallic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, luteolin-7-glucoside, citric acid, DL-malic acid, thiamine, and pyridoxine hydrochloride. The authors used a 1260 Infinity II chromatograph with a diode array detector by Agilent and an Inertsil ODS-3 chromatographic column (250 mm × 4.6 mm, 5 µm) by GL Sciences. The HPLC system was operated in gradient elution mode, and the detector was set at 244 nm.

**Results.** Ascorbic acid content in herbal drugs, herbal medicinal preparations, and herbal medicinal products can be determined by HPLC. Adequate sample preparation and chromatography conditions allow for inhibiting ascorbic acid oxidation in aqueous solutions for a period sufficient to complete testing (not less than 8 h).

**Conclusions.** The authors developed a highly sensitive and selective HPLC procedure for the quantitative determination of ascorbic acid intended for the standardisation of herbal drugs, herbal medicinal preparations, and herbal medicinal products. The procedure is worthy of inclusion in the Rose Hips and Vitamin Herbal Tea 2 monographs of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Switching to HPLC should not require lowering the limit for ascorbic acid (not less than 0.2%) established in the Rose Hips and Vitamin Herbal Tea 2 monographs for the titration method. The ascorbic acid content was below this limit in the vast majority of study samples. However, this discrepancy may be explained by the presence of dog rose (*Rosa canina*) species low in vitamin C, which should normally be used only as cholagogues.

**Key words:** Rose hips; dog rose fruits; *Rosae fructus*; ascorbic acid; vitamin C; HPLC; high performance liquid chromatography; vitamin herbal tea; herbal drugs; herbal medicinal preparations; herbal medicinal products

**For citation:** Golomazova T.A., Shefer E.P., Prokhvatilova S.S., Antonova N.P. Quantitative determination of ascorbic acid in herbal medicinal products by HPLC. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):184–194. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-458>

### Введение

Аскорбиновая кислота (АК), или витамин С, относится к классу водорастворимых витаминов и является важным элементом биохимических

процессов, протекающих в организме человека. Один из растительных источников витамина С — плоды шиповника, которые применяются в виде отваров и являются компонентом

многих витаминных сборов и лекарственных растительных препаратов (ЛРП). Помимо витамина С (0,10–7,44%) в плодах шиповника содержатся рибофлавин (витамин В<sub>2</sub>), β-каротин (провитамин А), филлохинон (витамин К<sub>1</sub>), биофлавоноиды (витамин Р), тиамин (витамин В<sub>1</sub>), органические кислоты (яблочная, лимонная), флавоноиды, пектиновые вещества, жирные кислоты, дубильные вещества и сахара. В современной медицинской практике плоды шиповника используются в качестве поливитаминного и желчегонного средства<sup>1</sup>.

Витаминная активность плодов шиповника различна и зависит от вида производящего растения. К высоковитаминным видам шиповника (содержание АК 2,46–7,44%) относят шиповники секции *Rosa cinnamomea* (коричный (майский), даурский, иглистый, кокандский, морщинистый, шиповник Беггера, Узбаба, Федченко), к низковитаминным (содержание АК 0,10–2,16%) — шиповники секции *Rosa caninae* (собачий, щитконосный, мелкоцветковый, песколюбивый, войлочный, зангезурский) [1].

В Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ) и Государственной фармакопее Республики Беларусь<sup>2</sup> представлены титриметрические методы определения содержания АК в лекарственном растительном сырье (ЛРС), к недостаткам которых можно отнести:

- высокую погрешность измерений, связанную с субъективностью визуального установления точки эквивалентности, особенно в окрашенных извлечениях из ЛРС;
- низкую специфичность, являющуюся следствием того, что извлечения из ЛРС и ЛРП содержат сумму биологически активных веществ с восстанавливающими свойствами.

В Европейской и Британской фармакопеех для обнаружения АК в ЛРС предложен метод спектрофотометрии, основанный на измерении светопоглощения продукта взаимодействия динитрофенилгидразина с АК в сернокислой среде при длине волны 520 нм<sup>3</sup>. Метод отличается значительной длительностью проведения испытания, трудоемкостью и нестабильностью окрашенного продукта реакции. Также не учитывается термолабильность АК, так как методика предполагает длительное нагревание раствора АК при 50 °С.

В источниках литературы можно найти много примеров определения АК методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в таких объектах, как лекарственные препараты, продукты питания и биологические жидкости (см., например, [2–4]). Подавляющее большинство этих методик не учитывают специфику объекта, не валидированы или нуждаются в коррекции и поэтому не могут быть использованы в анализе ЛРП. Ключевой проблемой количественного определения АК является стабильность ее растворов, поскольку водные растворы АК очень чувствительны к воздействию света и кислорода воздуха, повышенной температуре, pH и присутствию ионов металлов. В связи с этим необходим подбор оптимальных условий испытаний и получение водных растворов АК, устойчивых при проведении анализа.

Цель работы — разработка методики определения содержания АК в ЛРП и ЛРС, которая может быть рекомендована для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации при пересмотре ФС.2.5.0106.18 «Шиповника плоды» и при разработке ФС на «Витаминный сбор № 2».

### Материалы и методы

В качестве объектов исследования были использованы образцы ЛРП «Шиповника плоды» отечественных производителей (7 серий) и «Витаминный сбор № 2» (1 серия). Испытания выполняли в трех параллельных экспериментах с расчетом стандартного и относительного стандартного отклонений. Стандартные образцы: L-аскорбиновая кислота, Sigma-Aldrich, кат. № A5960, серия SLCC2154, содержание 100,0%; кофейная кислота Sigma-Aldrich, кат. № C0625, серия SLCC6298, содержание 98,5%; лимонная кислота Sigma-Aldrich, кат. № 33114, серия STBJ5337, содержание 100,2%; хлорогеновая кислота Sigma-Aldrich, кат. № C3878, серия WXBD1890V, содержание 96,0%; галловая кислота Sigma-Aldrich, кат. № G7384, серия SLBW1278, содержание 99,5%; яблочная кислота Sigma-Aldrich, кат. № 240176, серия STBL2344, содержание 99,2%; тиамин EP CRS, кат. № Y0000467, серия 2.0; пиридоксин гидрохлорид EP CRS, кат. № P4100000, серия 2.0; рутозид EP CRS, кат. № Y0000105, серия 4.0, содержание 88,8%; кверцетин USP RS, кат. № 1592409, серия R120F0, содержание 89,1%;

<sup>1</sup> Быков ВА, ред. Атлас лекарственных растений России. ВИЛАР; 2006.

<sup>2</sup> Шиповника плоды. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 2. Минск; 2008.

ФС 2.5.0106.18. Шиповника плоды. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М.; 2018.

<sup>3</sup> Monograph. 07/2019:1510 Dog Rose. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.  
Dog Rose. Monograph. British Pharmacopoeia. Vol. III. London; 2009.

лютеолин-7-глюкозид USP RS, кат. № 1370837, серия R121A0, содержание 96,0%.

Использованное оборудование: жидкостный хроматограф Agilent 1260 Infinity II; хроматографическая колонка: Inertsil ODS-3, 250 мм × 4,6 мм × 5 мкм (GL Sciences); электронные весы XPE205DR (Mettler Toledo); pH-метр/иономер SevenCompact S220 (Mettler Toledo), система очистки воды Milli-Q Integral 5 (Merck Millipore), шейкер орбитальный KS 501 digital (IKA Works), центрифуга Sigma 2-16 (Sartorius), мельница MF 10 basic (IKA Works), сушильный шкаф ED 53 (Binder).

В качестве экстрагента и растворителя использовали 0,01 М водный раствор щавелевой кислоты (ЩК) (Sigma-Aldrich, кат. № 75688, содержание 99,7%).

Точную навеску ЛРП массой ~2,5 г, измельченную до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, помещали в мерную колбу темного стекла объемом 250 мл и прибавляли 100 мл растворителя. Полученный раствор встряхивали на орбитальном шейкере в течение 20 мин, затем центрифугировали со скоростью 5000 мин<sup>-1</sup> в течение 5 мин. Супернатант фильтровали через мембранный фильтр из регенерированной целлюлозы (размер пор 0,45 мкм), отбрасывая первые 1–2 мл фильтрата. В качестве стандартного раствора использовали 0,004% раствор АК в растворителе.

Приготовление испытуемого и стандартного растворов проводили в защищенном от света

**Таблица 1.** Программа градиентного элюирования для количественного определения аскорбиновой кислоты в лекарственном растительном препарате

**Table 1.** Gradient elution programme for the quantitative determination of ascorbic acid in herbal medicinal products

| Время, мин<br>Time, min | Подвижная фаза<br>А, %<br>Mobile phase A, % | Подвижная фаза<br>Б, %<br>Mobile phase B, % |
|-------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|
| 0                       | 100                                         | 0                                           |
| 8                       | 100                                         | 0                                           |
| 10                      | 50                                          | 50                                          |
| 17                      | 50                                          | 50                                          |
| 19                      | 100                                         | 0                                           |
| 25                      | 100                                         | 0                                           |

**Примечание.** Подвижная фаза А — фосфатный буферный раствор с pH 3,0 (1)<sup>4</sup>; подвижная фаза Б — ацетонитрил.

**Note.** Mobile phase A: phosphate buffer solution, pH 3.0 (1)<sup>4</sup>; mobile phase B: acetonitrile.

месте с использованием мерных колб темного стекла. Готовые растворы немедленно перенесли в вials для светочувствительных образцов и отправляли в термостат автосамплера, где поддерживалась необходимая температура для проведения испытания.

Испытание проводили в условиях градиентного элюирования (табл. 1) на обращенно-фазовой колонке Inertsil ODS-3. Детектирование осуществляли с помощью спектрофотометрического детектора при длине волны 244 нм. Скорость потока составляла 1 мл/мин, температура колонки — 30 °С, температура термостата автосамплера — 4 °С, объем вводимой пробы — 10 мкл. Время удерживания АК в описанных условиях составило ~5,5 мин, время удерживания ЩК ~2,7 мин (рис. 1).

### Результаты и обсуждение

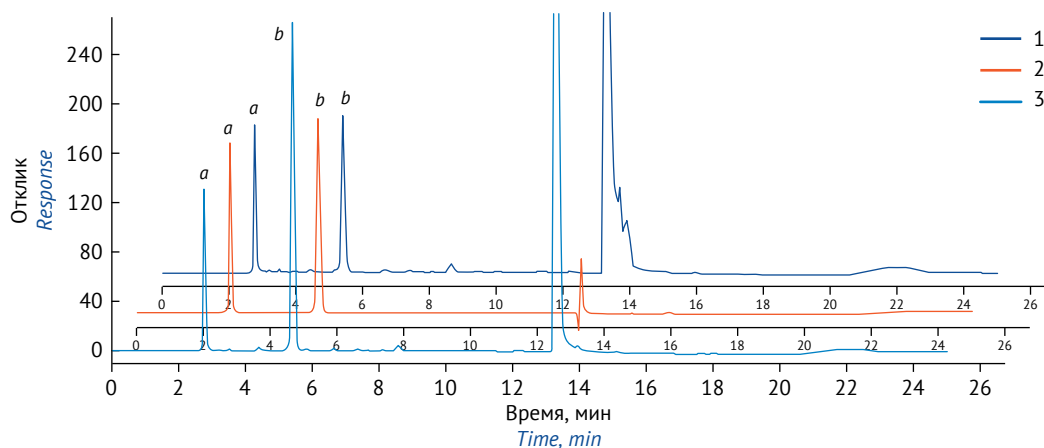
Для подтверждения специфичности методики была проведена оценка спектральной чистоты пиков аскорбиновой кислоты на хроматограммах растворов стандартного и испытуемого образцов с использованием спектрофотометрического детектора с диодной матрицей; полученные результаты: более 99,9%.

Спектры основных пиков на хроматограммах испытуемого и стандартного растворов идентичны и имеют один максимум поглощения при 244 нм (рис. 2). Времена удерживания АК на хроматограммах раствора стандартного образца АК и испытуемых образцов ЛРС совпадают, пик АК на хроматограммах подвижной фазы и растворителя отсутствует. Присутствие в водном извлечении других веществ не влияет на определение АК, что показано с помощью растворов стандартных образцов аскорбиновой кислоты, рутозида, кверцетина, галловой кислоты, кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты, лютеолин-7-глюкозида, лимонной кислоты, DL-яблочной кислоты, тиамин и пиридоксина гидрохлорида в растворителе (рис. 3).

Основной проблемой при разработке метода количественного определения АК в ЛРП является стабильность АК. Для ее решения в качестве экстрагента был использован 0,01 М водный раствор ЩК, так как:

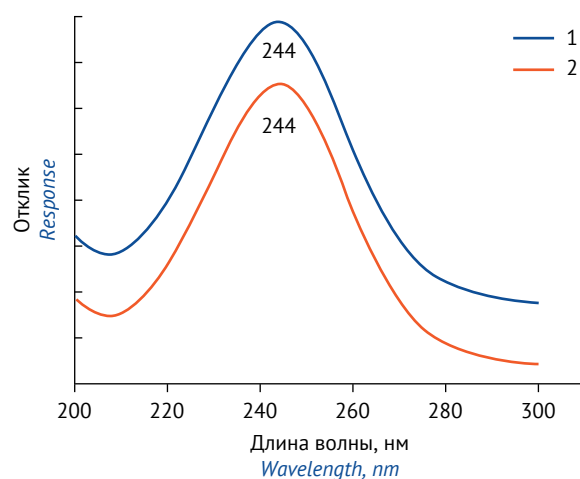
- ЩК образует с ионами металлов прочные хелатные комплексы, что ингибирует процесс катализа реакций деградации АК ионами металлов;
- 0,01 М раствор ЩК обеспечивает необходимую для экстракции АК кислую реакцию среды — pH около 2,3 [5];

<sup>4</sup> ОФС.1.3.0003.15. Буферные растворы. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.



**Рис. 1.** Типичные хроматограммы: 1 – испытуемого раствора Шиповника плодов; 2 – раствора стандартного образца аскорбиновой кислоты; 3 – испытуемого раствора Витаминного сбора № 2; а – пик щавелевой кислоты; b – пик аскорбиновой кислоты

**Fig. 1.** Characteristic chromatograms: 1, test solution of Rose Hips (rose hips); 2, ascorbic acid standard solution; 3, test solution of Vitamin Herbal Tea 2 (rose hips and rowan fruits); a, oxalic acid peak; b, ascorbic acid peak



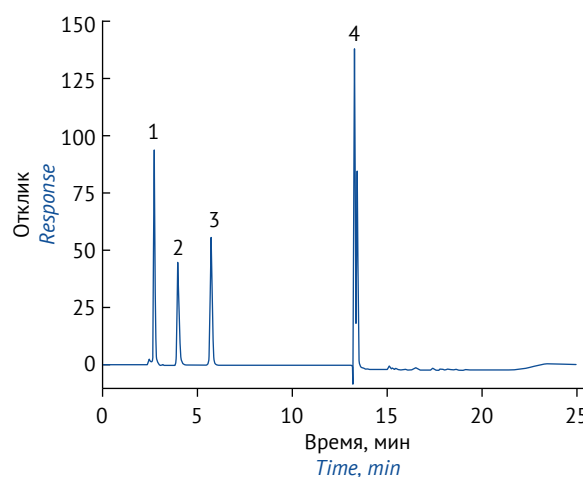
**Рис. 2.** УФ-спектры поглощения: 1 – раствора стандартного образца аскорбиновой кислоты; 2 – испытуемого раствора Шиповника плодов

**Fig. 2.** UV absorption spectra: 1, ascorbic acid standard solution; 2, test solution of Rose Hips (rose hips)

- при хроматографировании ЩК не препятствует определению АК, так как детектируется по отдельному пику (разрешение между вышеуказанными пиками – 17).

Таким образом, 0,01 М раствор ЩК в качестве экстрагента способен стабилизировать АК в разбавленных растворах в течение 8 ч, что достаточно для проведения полного комплекса хроматографических испытаний; колебания определяемой концентрации растворов находятся в пределах допустимой погрешности метода (рис. 4).

Следующей задачей являлся подбор условий пробоподготовки, обеспечивающих полноту экстракции. Согласно ФС.2.5.0106.18 ГФ РФ



**Рис. 3.** Хроматограмма раствора смеси стандартных образцов аскорбиновой кислоты, рутозида, кверцетина, галловой кислоты, кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты, лютеолин-7-глюкозида, лимонной кислоты, DL-яблочной кислоты, тиамин и пиридоксина гидрохлорида в растворе: 1 – пик щавелевой кислоты; 2 – пик тиамин; 3 – пик аскорбиновой кислоты; 4 – не разделяющиеся пики кверцетина, рутозида, галловой кислоты, кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты, лютеолин-7-глюкозида, лимонной кислоты, DL-яблочной кислоты и пиридоксина гидрохлорида

**Fig. 3.** Chromatogram of mixed reference standards (ascorbic acid, rutoside, quercetin, gallic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, luteolin-7-glucoside, citric acid, DL-malic acid, thiamine, and pyridoxine hydrochloride) in solvent: 1, oxalic acid peak; 2, thiamine peak; 3, ascorbic acid peak; 4, unresolved peaks of quercetin, rutoside, gallic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, luteolin-7-glucoside, citric acid, DL-malic acid, riboflavin, and pyridoxine hydrochloride

«Шиповника плоды» продолжительность экстракции составляет 10–120 мин. В проведенных нами исследованиях максимальное извлечение АК наблюдалось через 20 мин экстракции (рис. 5). Дальнейшее увеличение времени



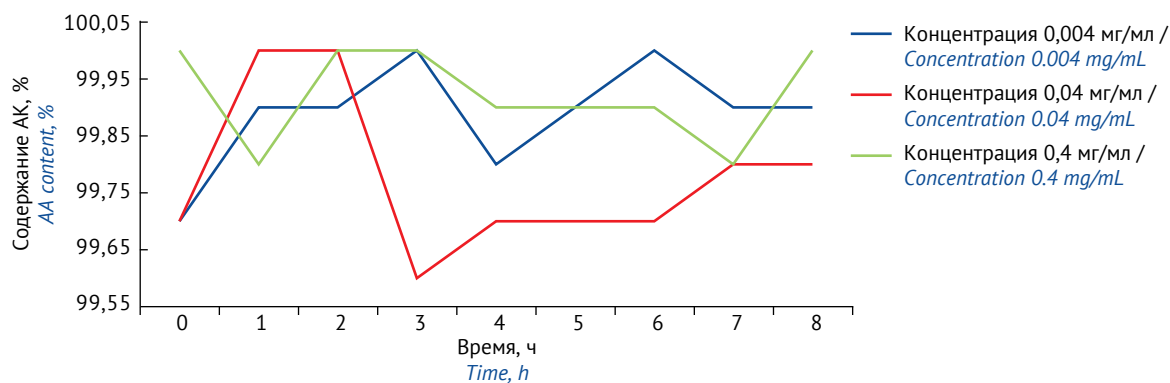


Рис. 4. Результаты исследования стабильности растворов аскорбиновой кислоты (АК)

Fig. 4. Results of the ascorbic acid (AA) stability study

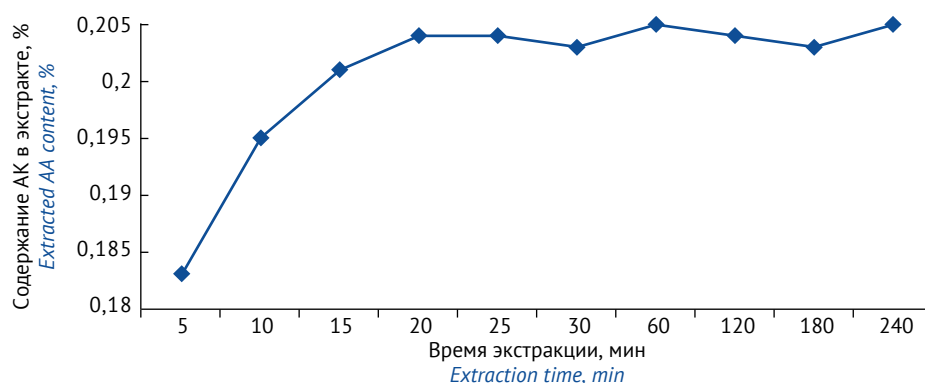


Рис. 5. Содержание аскорбиновой кислоты (АК) в извлечениях в зависимости от продолжительности экстракции

Fig. 5. Correlation between the ascorbic acid (AA) content in extracts and extraction time

экстрагирования не приводило к изменению определяемой концентрации АК в испытуемом растворе. Экстракция проводилась без нагревания из-за термолабильности АК, а также из-за многокомпонентности состава ЛРС, так как при повышении температуры в процессе экстрагирования наблюдается появление дополнительных пиков на хроматограмме испытуемого раствора.

Был подобран профиль градиентного элюирования. Наиболее соответствующей поставленным задачам была признана подвижная фаза состава ацетонитрил – фосфатный буферный раствор с pH 3,0 (табл. 1). Значение pH буферного раствора 3,0 оптимально, так как, с одной стороны, является щадящим для используемых хроматографических колонок, а с другой – позволяет сохранить АК в неионизированном состоянии ( $pK_a$  АК=4), что важно для получения стабильных времен удерживания.

В ходе испытания установлено содержание АК в различных образцах ЛРП «Шиповника плоды» разных производителей (табл. 2). Только один образец из семи соответствует требованиям

фармакопейной статьи «Шиповника плоды» ГФ РФ по разделу «Количественное определение АК». В остальных образцах содержание АК ниже в несколько раз, а в отдельных случаях АК содержится в следовых количествах. Низкое содержание АК в препарате может быть связано с использованием в качестве сырья плодов низковитаминных сортов шиповника, нарушением технологии сбора и сушки сырья, а также нарушением условий хранения лекарственного растительного препарата [6, 7].

Определение содержания АК в образцах плодов шиповника титриметрическими методиками показало более высокие результаты по сравнению с методикой ВЭЖХ (табл. 2). Необходимо отметить, что при титровании окрашенных водных извлечений нечеткий интервал перехода окраски затрудняет определение конечной точки титрования, что, в свою очередь, может привести к увеличению погрешности измерений.

В частях гипантия шиповника, отобранного из Витаминного сбора № 2, содержание АК составило 1,319% ( $RSD$  0,52%), в плодах рябины витаминного сбора № 2 АК не обнаружена.

**Таблица 2.** Количественное определение аскорбиновой кислоты в плодах шиповника с использованием различных методик

**Table 2.** Quantitative determination of ascorbic acid in rose hips by different analytical procedures

| Номер и наименование образцов<br><i>Sample number and name</i>                                              | Результат, %<br><i>Result, %</i> |                                         |                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------|
|                                                                                                             | ВЭЖХ<br><i>HPLC</i>              | Йодатометрия<br><i>Iodine titration</i> | Индофенольная методика<br><i>Indophenol titration</i> |
| Шиповника плоды, плоды цельные, производитель 1<br><i>Rose hips, whole, manufacturer 1</i>                  | 0,005<br>(RSD 1,72%)             | 0,010<br>(RSD 3,00%)                    | 0,012 (RSD 3,25%)                                     |
| Шиповника плоды, плоды-порошок, производитель 2<br><i>Rose hips, powdered, manufacturer 2</i>               | 0,205<br>(RSD 0,65%)             | 0,305<br>(RSD 2,24%)                    | 0,302 (RSD 2,80%)                                     |
| Шиповника плоды, плоды цельные, производитель 3<br><i>Rose hips, whole, manufacturer 3</i>                  | 0,106<br>(RSD 0,95%)             | 0,162<br>(RSD 2,84%)                    | 0,159 (RSD 1,49%)                                     |
| Шиповника плоды, плоды-порошок, производитель 3<br><i>Rose hips, powdered, manufacturer 3</i>               | 0,065<br>(RSD 1,21%)             | 0,110<br>(RSD 2,47%)                    | 0,110 (RSD 2,09%)                                     |
| Шиповника плоды, плоды цельные, производитель 4<br><i>Rose hips, whole, manufacturer 4</i>                  | 0,005<br>(RSD 1,83%)             | 0,011<br>(RSD 3,09%)                    | 0,010 (RSD 3,12%)                                     |
| Шиповника плоды, плоды-порошок, производитель 5<br><i>Rose hips, powdered, manufacturer 5</i>               | 0,006<br>(RSD 1,67%)             | 0,015<br>(RSD 3,29%)                    | 0,012 (RSD 3,05%)                                     |
| Шиповника плоды, плоды цельные, производитель 6<br><i>Rose hips, whole, manufacturer 6</i>                  | 0,100<br>(RSD 0,46%)             | 0,158<br>(RSD 2,51%)                    | 0,154 (RSD 2,11%)                                     |
| Витаминный сбор № 2, сбор измельченный, производитель 3<br><i>Vitamin Herbal Tea 2, cut, manufacturer 3</i> | 0,302<br>(RSD 1,00%)             | 0,446<br>(RSD 1,99%)                    | 0,440 (RSD 2,07%)                                     |

**Примечание.** RSD — относительное стандартное отклонение. Определение методом иодатометрии и по индофенольной методике проводили согласно ФС.2.5.0106.18. Шиповника плоды. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.

**Note.** RSD, relative standard deviation. The iodine and indophenol titration procedures corresponded to the Rose Hips monograph (ФС.2.5.0106.18) of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, ed. XIV.

В плодиках-орешках шиповника, в среднем составляющих около 48% от всего плода, АК практически отсутствует и составляет 0,001% (RSD 1,88%). Из полученных результатов следует, что в подавляющем большинстве ЛРП, содержащих плоды шиповника и представленных в аптечных организациях, использованы низковитаминные виды шиповника.

Была проведена оценка пригодности хроматографической системы по хроматограмме стандартного образца АК по следующим параметрам:

- значение асимметрии пика АК — 1,03;
- эффективность колонки по пику АК — 11 904 теоретические тарелки;
- относительное стандартное отклонение площади пика АК для 6 определений — 0,65%;
- разрешение между пиками ЩК и АК — 17,04.

С учетом фактически полученных результатов для оценки пригодности хроматографической системы были установлены следующие требования:

- значение асимметрии пиков АК на хроматограммах раствора стандартного образца должно составлять 0,8–1,5;
- эффективность колонки по пику АК на хроматограмме раствора стандартного образца

должна быть не менее 5000 теоретических тарелок;

- относительное стандартное отклонение площади пика АК на хроматограммах раствора стандартного образца для 6 определений должно составлять не более 2,0%.

Содержание АК в ЛРП в процентах, в пересчете на абсолютно сухое сырье (X), вычисляли по формуле:

$$X = \frac{S \times a_0 \times 5 \times 100 \times P \times 100 \times 100}{S_0 \times a \times 50 \times 25 \times 100 \times (100 - W)} = \frac{S \times a_0 \times P \times 40}{S_0 \times a \times (100 - W)}, \quad (1)$$

где: S — площадь пика АК на хроматограмме раствора испытуемого образца; S<sub>0</sub> — площадь пика АК на хроматограмме раствора стандартного образца; a — навеска испытуемого ЛРП, г; a<sub>0</sub> — навеска стандартного образца АК, г; P — содержание основного вещества в стандартном образце АК, %; W — содержание влаги в ЛРП, %.

По результатам проведенного исследования предложено сохранить значение нормы содержания АК в ФС.2.5.0106.18 «Шиповника плоды» «не менее 0,2%».

В ходе проведения валидационных исследований<sup>5</sup> методики получены результаты, соответствующие критериям приемлемости (табл. 3).

### Выводы

1. Разработана высокочувствительная и селективная методика количественного определения аскорбиновой кислоты в ЛРС и ЛРП методом ВЭЖХ.

2. Надлежащие условия пробоподготовки и хроматографирования позволяют ингибировать процессы окисления аскорбиновой кислоты в водных растворах на время, достаточное для проведения полного испытания (не менее 8 ч).

3. В соответствии с данными по валидации методика пригодна для количественного

**Таблица 3.** Результаты валидационных исследований методики количественного определения аскорбиновой кислоты в лекарственном растительном препарате «Шиповника плоды»

**Table 3.** Validation results for the analytical procedure for ascorbic acid quantification in the Rose Hips medicinal herbal product.

| Характеристика<br><i>Parameter</i>    | Требования<br><i>Requirements</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Результат<br><i>Result</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                              |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Специфичность<br><i>Specificity</i>   | Методика позволяет определить конкретное вещество<br><i>The procedure quantifies the analyte</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Время удерживания основного вещества испытуемого раствора соответствует времени удерживания АК стандартного раствора АК. На УФ-спектре испытуемого раствора присутствует характерный максимум поглощения (244 нм), совпадающий с максимумом поглощения УФ-спектра стандартного раствора АК<br><i>The retention time of the main peak in the chromatogram of the test solution corresponds to the retention time of the ascorbic acid in the chromatogram of the ascorbic acid standard solution. The UV spectrum of the test solution shows a characteristic absorption maximum which matches the absorption maximum in the UV spectrum of the ascorbic acid standard solution</i>                                                                                                                                                                                                                    |                                              |
|                                       | Присутствие сопутствующих компонентов не влияет на результат анализа<br><i>Concomitant compounds do not inadvertently affect test results</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Присутствие в водном извлечении других веществ не влияет на определение АК, что показано с помощью стандартных растворов рутозида, кверцетина, галловой кислоты, кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты, лютеолин-7-глюкозида, лимонной кислоты, DL-яблочной кислоты, тиамина, рибофлавина и пиридоксина гидрохлорида. Разрешение (R) между пиками АК и ЩК на хроматограмме стандартного раствора АК составляет 17,04<br><i>Other substances present in the aqueous extract do not affect the quantitative determination of ascorbic acid, as demonstrated with standard solutions of rutinoside, quercetin, gallic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, luteolin-7-glucoside, citric acid, DL-malic acid, thiamine, riboflavin, and pyridoxine hydrochloride. The resolution (R) between the ascorbic and oxalic acid peaks in the chromatogram of the ascorbic acid standard solution is 17.04</i> |                                              |
| Линейность<br><i>Linearity</i>        | Линейность детекции. Данные экспериментальных измерений аналитических сигналов 5 проб стандартных образцов с различным содержанием АК обработаны методом наименьших квадратов с использованием линейной модели:<br>$y = a + bx$<br><i>Detection linearity. Experimental data obtained by measuring the analytical responses from 5 samples of the ascorbic acid reference standard, with different amounts of the analyte, are processed using the least squares method and the linear model: <math>y = a + bx</math></i><br>Коэффициент корреляции<br><i>Correlation coefficient:</i><br>$ r  \geq 0,99$ | Концентрация АК, мг/мл<br><i>Concentration of ascorbic acid, mg/mL</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Площадь пика, у.е.<br><i>Peak area, a.u.</i> |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 0,0320                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 932,7158                                     |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 0,0361                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 1060,1256                                    |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 0,0406                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 1192,2615                                    |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 0,0440                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 1292,1061                                    |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 0,0481                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 1412,510                                     |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Уравнение прямой<br><i>Line equation</i><br>$y = 29720x - 15,63$<br>Коэффициент корреляции<br><i>Correlation coefficient</i><br>$ r  = 0,9999$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                              |
| Аналитическая область<br><i>Range</i> | Методика применима в интервале 80–120% от номинального значения<br><i>The method is applicable in the range from 80 to 120% of the nominal value</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Соответствует на основании данных по изучению линейности<br><i>The linearity data confirm that the result conforms to the requirements</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                              |

<sup>5</sup> ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018

Продолжение таблицы 3

Table 3 (continued)

| Характеристика<br><i>Parameter</i>                                          | Требования<br><i>Requirements</i>                                                                                                                                                                                                        | Результат<br><i>Result</i>                                                                                                                                                                                |                                                       |                                                                                                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Правильность<br><i>Trueness</i>                                             | Свободный член линейного уравнения меньше своего доверительного интервала<br><i>The y-intercept of the line equation is less than its confidence interval</i><br>$\Delta a = t(0,05, n - 2) \times s_a$<br>$a \leq \Delta a$             | На основании данных по изучению линейности:<br><i>Based on the linearity data:</i><br>$ a  =  15,63 $<br>$s = 8,04$<br>$t(0,05, n - 2) = 3,18$<br>$\Delta a = 3,18 \times 8,04 = 25,57$<br>$a < \Delta a$ |                                                       |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | Количество АК в испытуемом образце с добавками, %<br><i>Spiked ascorbic acid amount, %</i>                                                                                                                | Найдено, %<br><i>Measured ascorbic acid amount, %</i> | Отношение найденного количества АК к количеству АК в испытуемом образце с добавками, %<br><i>Percent recovery of ascorbic acid, %</i> |
|                                                                             | Величина отношения найденного количества АК к количеству в испытуемом образце с добавками не выходит за пределы допустимого диапазона (98–102%)<br><i>The percent recovery of ascorbic acid is within the acceptable range (98–102%)</i> | 0,160                                                                                                                                                                                                     | 0,159                                                 | 98,1                                                                                                                                  |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                           | 0,156                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                           | 0,155                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | 0,180                                                                                                                                                                                                     | 0,179                                                 | 98,9                                                                                                                                  |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                           | 0,178                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                           | 0,178                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | 0,200                                                                                                                                                                                                     | 0,199                                                 | 100,5                                                                                                                                 |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                           | 0,201                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                           | 0,203                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | 0,220                                                                                                                                                                                                     | 0,221                                                 | 100,9                                                                                                                                 |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                           | 0,220                                                 |                                                                                                                                       |
| 0,224                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                           |                                                       |                                                                                                                                       |
| 0,240                                                                       | 0,239                                                                                                                                                                                                                                    | 99,2                                                                                                                                                                                                      |                                                       |                                                                                                                                       |
|                                                                             | 0,240                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                           |                                                       |                                                                                                                                       |
|                                                                             | 0,235                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                           |                                                       |                                                                                                                                       |
| Прецизионность<br><i>Precision</i><br>Повторяемость<br><i>Repeatability</i> | <i>RSD</i> результатов 6 определений количественного содержания АК $\leq 3,0\%$<br><i>The RSD for 6 determinations of ascorbic acid content is <math>\leq 3.0\%</math></i>                                                               | Результаты 6 определений количественного содержания АК<br><i>Results of 6 determinations of ascorbic acid content, %</i>                                                                                  |                                                       |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | №                                                                                                                                                                                                         | Значение, %<br><i>Result, %</i>                       |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | 1                                                                                                                                                                                                         | 0,207                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | 2                                                                                                                                                                                                         | 0,206                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | 3                                                                                                                                                                                                         | 0,204                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | 4                                                                                                                                                                                                         | 0,204                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | 5                                                                                                                                                                                                         | 0,206                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | 6                                                                                                                                                                                                         | 0,204                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | Среднее значение<br><i>Mean</i>                                                                                                                                                                           | 0,205                                                 |                                                                                                                                       |
|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                          | <i>RSD</i> = 0,65%                                                                                                                                                                                        |                                                       |                                                                                                                                       |

Продолжение таблицы 3

Table 3 (continued)

| Характеристика<br><i>Parameter</i>                              | Требования<br><i>Requirements</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Результат<br><i>Result</i>                                                                                                  |                                                                     |                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Межлабораторная прецизионность<br><i>Intermediate precision</i> | Полученное значение критерия Фишера, вычисленное по результатам проведения испытаний разными исполнителями на разном оборудовании, должно быть меньше табличного значения<br><i>The F-test value calculated from the results obtained by different operators with different equipment is less than the reference value</i><br>$F_{\text{практ}} = s_1^2/s_2^2 \leq F_{\text{теор}}$ | №                                                                                                                           | Исполнитель 1,<br>Оборудование 1<br><i>Operator 1, Instrument 1</i> | Исполнитель 2,<br>Оборудование 2<br><i>Operator 2, Instrument 2</i> |
|                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 1                                                                                                                           | 0,202%                                                              | 0,206%                                                              |
|                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2                                                                                                                           | 0,203%                                                              | 0,208%                                                              |
|                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 3                                                                                                                           | 0,205%                                                              | 0,204%                                                              |
|                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | $s$                                                                                                                         | 0,0015                                                              | 0,0020                                                              |
|                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | $s_2$                                                                                                                       | 0,000002                                                            | 0,000004                                                            |
|                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | $F_{\text{практ}} = 0,000004/0,000002 = 2$<br>$F_{\text{теор}}(0,05; 2; 2) = 19,00$<br>$F_{\text{практ}} < F_{\text{теор}}$ |                                                                     |                                                                     |

**Примечание.** АК — аскорбиновая кислота, ЩК — щавелевая кислота,  $t(0,95; n=2)$  — коэффициент Стьюдента, где 0,95 — вероятность,  $n=2$  — число степеней свободы;  $F_{\text{практ}}, F_{\text{теор}}(0,05; 2; 2)$  — полученный и табличный критерии Фишера соответственно, где 0,05 — уровень значимости, 2 и 2 — число степеней свободы;  $s$  — стандартное отклонение;  $s_1, s_2$  — большее и меньшее стандартные отклонения полученных результатов соответственно;  $s_0$  — стандартное отклонение свободного члена, RSD — относительное стандартное отклонение (%).

**Note.**  $t$ , Student's  $t$ -test (probability=0.95;  $n=2$ );  $F_{\text{практ}}$  and  $F_{\text{теор}}$ , calculated and critical Fisher's test values, respectively (significance level=0.05; number of degrees of freedom=2);  $s$ , standard deviation;  $s_1$  and  $s_2$ , standard deviations of test results, the highest and the lowest, respectively;  $s_0$ , standard deviation of the  $y$ -intercept; RSD, relative standard deviation (%).

определения аскорбиновой кислоты в ЛРС и ЛРП, так как позволяет получать достоверные и воспроизводимые результаты и может быть рекомендована для включения в ФС на «Шиповника плоды» и «Витаминный сбор № 2» вместо более трудоемких и неселективных титриметрических методик определения, результаты которых показывают завышенное значение содержания аскорбиновой кислоты в ЛРС и ЛРП.

4. Норму содержания аскорбиновой кислоты («не менее 0,2%») в ЛРС и ЛРП «Шиповника плоды» и ЛРП «Витаминный сбор № 2», установ-

ленную с помощью титриметрического метода, не рекомендуется снижать при использовании метода ВЭЖХ, поскольку содержание аскорбиновой кислоты в высоковитаминных видах шиповника может составлять от 2,5 до 7%.

5. Проблема заниженного содержания аскорбиновой кислоты в подавляющем количестве испытуемых образцов шиповника, возможно, связана с использованием в качестве источников сырья низковитаминных видов шиповника секции *Rosa caninae*, которые применяются только как желчегонное средство.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Ламан Н, Копылова Н. Шиповник — природный концентрат витаминов и антиоксидантов. *Наука и инновации*. 2017;10(176):45–9.  
Laman N, Kopylova N. Rosehips as a natural concentrate of vitamins and antioxidants. *The Science and Innovations*. 2017;10(176):45–9 (In Russ.).  
EDN: [SNNROI](#)
- Novakova L, Solich P, Solichova D. HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *Trends Anal Chem*. 2008;27(10): 942–58.  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.08.006>
- Um M, Kim JW, Lee JW. Optimization of ascorbic acid extraction from *Rugosa Rose* (*Rosa rugosa* Thunb.) fruit using response surface methodology and validation of the analytical method. *J Korean Wood Sci Technol*. 2020;48(3):364–75.  
<https://doi.org/10.5658/WOOD.2020.48.3.364>
- Хасанов ВВ, Дычко КА, Куряева ТТ, Нестерова ЕВ. Определение аскорбиновой кислоты в крови методом ВЭЖХ. *Аналитика и контроль*. 2013;17(3):322–5.  
Khasanov VV, Dychko KA, Kuriaeva TT, Nesterova EV. HPLC determination of ascorbic acid in blood. *Analytics and Control*. 2013;17(3):322–5 (In Russ.).  
EDN: [RBACBX](#)
- Раджидип С, Бхавана П, Храмченко ВЕ. Содержание аскорбиновой кислоты в зеленых, красных и черных листьях бадана толстолистного. *Научное обозрение. Педагогические науки*. 2019;(4):86–9.  
Rajdeep S, Bhavana P, Khranchenko VE. Ascorbic acid concentration in green, red, and black leaves of *Bergenia crassifolia*. *Scientific Review. Pedagogical Sciences*. 2019;(4):86–9 (In Russ.).  
EDN: [JOQDXN](#)



6. Морозов СВ, Ткачева НИ, Ткачев АВ. Проблемы комплексного химического профилирования лекарственных растений. *Химия растительного сырья*. 2018;(4):5–28.  
Morozov SV, Tkacheva NI, Tkachev AV. Problems of comprehensive chemical profiling of medicinal plants. *Chemistry of Plant Raw Material*. 2018;(4):5–28 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.14258/jcprm.2018044003>
7. Новрузов АР. Содержание и динамика накопления аскорбиновой кислоты в плодах *Rosa canina* L. *Химия растительного сырья*. 2014;(3):221–6.  
Novruzov AR. Contents and dynamics of accumulation of the ascorbic acid in fruits of *Rosa canina* L. *Chemistry of Plant Raw Material*. 2014;(3):221–6 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.14258/jcprm.1403221>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Т.А. Голомазова — выполнение экспериментальной части исследований, написание текста рукописи; Е.П. Шефер — разработка дизайна валидационного исследования и обработка его результатов; С.С. Прохвятилова — сбор, анализ и обобщение данных литературы; Н.П. Антонова — идея, планирование исследования, консультация по вопросам проведения отдельных этапов экспериментальных работ.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Tatyana A. Golomazova conducted experiments and drafted the manuscript. Elena P. Shefer designed the validation study and analysed its results. Svetlana S. Prokhvatilova collected, analysed, and summarised literature data. Natalia P. Antonova elaborated the study idea, planned the study, and provided consultations on individual experimental stages.

**Acknowledgements.** The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Голомазова Татьяна Александровна**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9917-9367>  
[golomazovata@expmed.ru](mailto:golomazovata@expmed.ru)

**Шефер Елена Павловна**, канд. фарм. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8389-4799>  
[shefer@expmed.ru](mailto:shefer@expmed.ru)

**Прохвятилова Светлана Степановна**, канд. фарм. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3278-1994>  
[prokhvatilova@expmed.ru](mailto:prokhvatilova@expmed.ru)

**Антонова Наталия Петровна**, канд. биол. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7818-5303>  
[nantonava@expmed.ru](mailto:nantonava@expmed.ru)

Поступила 30.05.2022

После доработки 28.10.2022

Принята к публикации 21.11.2022

Online first 20.04.2023

**Tatyana A. Golomazova**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9917-9367>  
[golomazovata@expmed.ru](mailto:golomazovata@expmed.ru)

**Elena P. Shefer**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8389-4799>  
[shefer@expmed.ru](mailto:shefer@expmed.ru)

**Svetlana S. Prokhvatilova**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3278-1994>  
[prokhvatilova@expmed.ru](mailto:prokhvatilova@expmed.ru)

**Natalia P. Antonova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7818-5303>  
[nantonava@expmed.ru](mailto:nantonava@expmed.ru)

Received 30 May 2022

Revised 28 October 2022

Accepted 21 November 2022

Online first 20 April 2023



Н.П. Антонова   
Е.П. Шефер    
С.С. Прохвятилова   
Н.Е. Семенова   
В.Н. Макухин   
С.А. Кучугурин   
М.С. Зотова 

## Сравнительная оценка требований к качеству лекарственных препаратов, содержащих диосмин

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

✉ Шефер Елена Павловна; [shefer@expmed.ru](mailto:shefer@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

В настоящее время существует потребность в унификации подходов к стандартизации препаратов диосмина в связи с увеличением объема проведения регистрационной и пострегистрационной экспертизы препаратов этой группы, а также с необходимостью разработки фармакопейной статьи на препараты диосмина для Государственной фармакопеи Российской Федерации. **Цель работы:** определение подхода к стандартизации лекарственных препаратов, содержащих диосмин. **Материалы и методы:** объектами исследования служили данные научных публикаций, а также частные монографии ведущих зарубежных фармакопей. Экспериментальная работа проводилась на образцах препаратов диосмина в форме таблеток, покрытых пленочной оболочкой, в дозировке 500 и 1000 мг, отечественных и зарубежных производителей. Исследование осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием на жидкостном хроматографе Agilent 1260 Infinity II DAD System. В качестве стандартных образцов использовали диосмин квалификации USP RS, гесперидин квалификации EP CRS и диосмин для проверки пригодности хроматографической системы квалификации EP CRS для идентификации примесей А, В, С, D, Е и F. **Результаты:** проведен аналитический обзор требований к качеству лекарственных препаратов, содержащих диосмин, с анализом экспериментальных данных, полученных в ходе регистрационной и пострегистрационной экспертизы российских и зарубежных лекарственных средств. Сравнительный анализ нормативной документации зарегистрированных лекарственных препаратов, содержащих диосмин, показал различие в подходах к оценке содержания родственных примесей и действующих веществ. Анализ данных литературы, экспериментальных данных и требований нормативных документов в области стандартизации, предъявляемых к стандартизации препаратов, содержащих диосмин, позволяет рекомендовать подход, согласно которому сопутствующие флавоноиды (гесперидин, изорхойфоллин, линарин, диосметин), обеспечивающие вклад в фармакологическое действие препарата, нормируются в составе показателя «Количественное определение». Примеси, относящиеся к побочным продуктам при производстве диосмина (примеси А и D), нормируются и оцениваются при испытаниях по показателю «Родственные примеси». **Выводы:** предложено проводить оценку содержания сопутствующих флавоноидов (гесперидина, изорхойфолина, линарина, диосметина) в составе показателя «Количественное определение», примеси А и D, а также единичные неидентифицированные примеси и сумму примесей нормировать в показателе «Родственные примеси».

**Ключевые слова:** диосмин; гесперидин; очищенная микронизированная флавоноидная фракция; ВЭЖХ; высокоэффективная жидкостная хроматография; Государственная фармакопея Российской Федерации

**Для цитирования:** Антонова Н.П., Шефер Е.П., Прохвятилова С.С., Семенова Н.Е., Макухин В.Н., Кучугурин С.А., Зотова М.С. Сравнительная оценка требований к качеству лекарственных препаратов, содержащих диосмин. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(2):195–205. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-420>

N.P. Antonova   
E.P. Shefer   
S.S. Prokhvatilova   
N.E. Semenova   
V.N. Makukhin   
S.A. Kuchugurin   
M.S. Zotova 

## Comparative Assessment of Quality Requirements for Medicinal Products Containing Diosmin

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

✉ Elena P. Shefer; [shefer@expmed.ru](mailto:shefer@expmed.ru)

### ABSTRACT

Currently, there is an increase in pre- and post-approval testing of medicinal products containing diosmin and hence a need to unify approaches to standardisation of this group of pharmaceuticals. Moreover, the State Pharmacopoeia of the Russian Federation lacks a monograph for these products. **The aim of the study** was to determine an approach to standardisation of medicinal products containing diosmin. **Materials and methods:** the study analysed scientific publications, as well as monographs of leading foreign pharmacopoeias. Experimental work was carried out using samples of diosmin-containing pharmaceuticals in the form of 500 and 1000 mg film-coated tablets produced by Russian and foreign manufacturers. The study involved high performance liquid chromatography with UV detection using an Agilent 1260 Infinity II liquid chromatography system with a diode array detector. The following reference standards were used: a diosmin RS, USP grade; a hesperidin CRS, Ph. Eur. Grade; and a diosmin CRS for testing chromatography system suitability for identification of impurities A, B, C, D, E, and F, Ph. Eur. grade. **Results:** the authors reviewed quality requirements for pharmaceutical products containing diosmin and analysed experimental data obtained during pre- and post-approval testing of Russian and foreign medicines. The comparison of regulatory documents for registered diosmin-containing medicinal products showed a difference in approaches to assessing the contents of related substances and active pharmaceutical ingredients. Having analysed the literature, experimental data and regulatory requirements for standardisation of diosmin-containing pharmaceuticals, the authors recommended an approach to standardisation. According to the approach, concomitant flavonoids (hesperidin, isorchoifolin, linarin, and diosmetin) contributing to the pharmacological activity of a medicinal product are specified as part of Assay, and process-related by-products (impurities A and D) are specified and evaluated as part of Related substances tests. **Conclusion:** the authors propose to evaluate the contents of concomitant flavonoids (hesperidin, isorchoifolin, linarin, diosmetin) under Assay and to specify impurities A and D, as well as single unidentified impurities and total amount of impurities under Related substances.

**Key words:** diosmin; hesperidin; micronised purified flavonoid fraction; HPLC; high-performance liquid chromatography; State Pharmacopoeia of the Russian Federation

**For citation:** Antonova N.P., Shefer E.P., Prokhvatilova S.S., Semenova N.E., Makukhin V.N., Kuchugurin S.A., Zotova M.S. Comparative assessment of quality requirements for medicinal products containing diosmin. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):195–205. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-420>

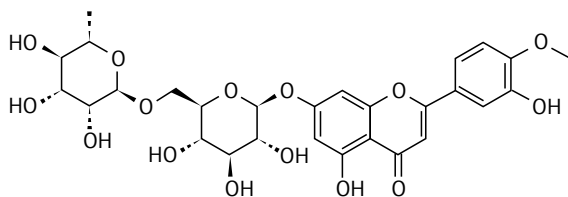
### Введение

Диосмин по своей химической структуре является биофлавоноидом и представляет собой соединение полициклической флавоновой структуры с ди-сахаридом — диосметин 7-О-рамнозил-глюкозид (или диосметин 7-О-рутинозид).

Природными источниками, наиболее богатыми диосмином, считаются цитрусовые: незрелые плоды цитрона (*Citrus medica* L.), особенно раз-

новидности «пальцы Будды» (*Citrus medica* var. *sarcodactylis* (Hoola van Nooten) Swingle), и лимона Мейера (*Citrus meyeri* Tanaka). Содержание диосмина в зрелых плодах существенно ниже. Диосмин содержится также в дубровнике обыкновенном (*Teucrium chamaedrys* L.) и иссопе лекарственном (*Hyssopus officinalis* L.), произрастающих в Евразии и Африке, а также в листьях южноафриканского растения бучу (*Agathosma* Willd.) [1, 2].

Впервые сведения о выделении диосмина из растений и синтезе его из гесперидина, полученного из кожуры плодов citrusовых, были опубликованы в 1925 г. [3]. С тех пор интерес к данному веществу не снижается, и в последнее время наблюдается рост исследований по изучению фармакологического действия диосмина и поиску путей его производства (см., например, [4–7]).



Для фармацевтических целей диосмин получают из гесперидина, который является предшественником диосмина, из-за чего его часто называют «полусинтетическим диосмином». Гесперидин содержится главным образом в пульпе (губчатой части корок) citrusовых: лимона (*Citrus limon* (L.) Osbeck) [8], помаранца (*Citrus aurantium* L.), мандарина уншиу (*Citrus unshiu* (Tanaka ex Swingle) Marcow) [9] и апельсина (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) [10].

В настоящее время зарегистрировано множество патентов на способы получения диосмина (см., например, [11–13]). Диосмин-сырец, или технический диосмин, получают путем обработки гесперидина галогенами в щелочной среде с последующей нейтрализацией кислотой до выпадения в осадок целевого продукта. Источниками родственных примесей являются гесперидин, который в небольшом количестве остается в неизменном виде после реакции окисления, сопутствующие флавоноиды с близкой ему структурой, такие как изорхойфоллин и линарин. Среди других примесей в незначительных количествах определяется галоген в свободном или в связанном состоянии, органические растворители, а также побочные продукты производства, образующиеся при расщеплении диосмина под воздействием щелочи или кислоты: ацетоизованиллин и диосметин [14].

Опыт применения лекарственных препаратов на основе диосмина в фармакотерапии

хронических заболеваний венозной и лимфатической систем насчитывает почти 50 лет. Препараты диосмина, относящиеся к группе ангиопротекторных средств, обладают венозотонизирующим и противовоспалительным действием, улучшают лимфатический дренаж, микроциркуляцию и диффузию кислорода и перфузию в кожной ткани, уменьшают адгезию лейкоцитов к венозной стенке и их миграцию в паравенозные ткани. Однако препараты, содержащие диосмин, характеризуются низкой биодоступностью (40–57,9%), обусловленной недостаточной абсорбцией в желудочно-кишечном тракте. Часть диосмина метаболизируется бактериями слепой кишки с образованием гиппуровой и бензойной кислот<sup>1</sup>. Вследствие этого клинический эффект наступает медленно и находится в прямой зависимости от длительности приема и суточной дозы диосмина.

Для повышения биодоступности диосмина и оптимизации его суточной дозировки используют разнообразные технологические приемы, такие как ультразвуковая микронизация, изготовление водорастворимых форм препарата и др. [7]. Для производства готовых лекарственных форм используют диосмин в виде субстанции-порошка (фракция флавоноидов с различной степенью дисперсности (очищенная микронизированная флавоноидная фракция), стандартизованная по содержанию диосмина (90%) и гесперидина (10%)) или смесь субстанций диосмина и гесперидина в соотношении 9:1.

В Государственный реестр лекарственных средств<sup>2</sup> включено 107 записей с международным непатентованным названием (МНН) диосмин, из них субстанций – 32, в лекарственной форме таблетки – 75; с МНН гесперидин+диосмин (очищенная микронизированная флавоноидная фракция) – 122 записи, из них субстанции – 6, в лекарственной форме таблетки – 116. Зарегистрированы препараты с дозировкой действующего вещества диосмин или гесперидин+диосмин 500, 600 и 1000 мг.

Субстанция диосмина описана в Европейской (Ph. Eur.), Американской (USP) и Британской (BP) фармакопеях<sup>3</sup>, планируется включение в Государственную фармакопею Российской Федерации (ГФ РФ).

<sup>1</sup> Справочник лекарственных препаратов Vidal. <https://www.vidal.ru>

<sup>2</sup> <https://grls.rosminzdrav.ru>

<sup>3</sup> Monograph 01/2017:1611. Diosmin. European Pharmacopeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.

Dietary Supplement Monographs, Diosmin. United States Pharmacopeia. USP-NF. Rockville, MD; 2022.

Diosmin. Monographs: Medicinal and Pharmaceuticals substances. British Pharmacopoeia. London; 2009.

Субстанция диосмина представляет собой гигроскопичный порошок от серовато-желтого до светло-желтого цвета, содержащий от 90,0 до 102,0% диосмина в пересчете на безводное вещество. Требования по содержанию родственных примесей, определяемых высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ), в зарубежных фармакопеях различны (табл. 1).

Все нормируемые примеси можно разделить на две группы: примеси флавоноидной природы, обладающие сходным с диосмином фармакологическим действием, и другие примеси, не обладающие подобным диосмину фармакологическим действием. К первой группе относятся гесперидин, изорхойфолин, линарин и диосметин. Три последних флавоноида образуются при синтезе диосмина из родственных примесей гесперицина: изонарингина, неопонцирина и гесперетина соответственно. Ко второй группе можно отнести побочные продукты реакции: ацетоизованиллон и 6-йододиосмин. Ацетоизованиллон образуется путем гидролиза диосмина в результате реакции омыления, 6-йододиосмин является побочным продуктом ацетилгесперицина при йодировании ацетилдиосмина (рис. 1).

Количественное определение действующего вещества в субстанции диосмина проводят

методом ВЭЖХ одновременно с оценкой содержания родственных примесей относительно стандартного образца диосмина. Содержание диосмина в пересчете на безводное вещество регламентируется в диапазоне 90,0–102,0%.

На сегодняшний день существует потребность в унификации подходов к стандартизации препаратов диосмина в связи с увеличением объема проведения регистрационной и пост-регистрационной экспертизы лекарственных средств этой группы препаратов, а также необходимостью разработки фармакопейной статьи на препараты диосмина для ГФ РФ.

Цель работы – определение подхода к стандартизации лекарственных препаратов, содержащих диосмин.

### Материалы и методы

Объектами исследования служили данные научных публикаций, а также частные монографии ведущих зарубежных фармакопей (Ph. Eur., USP, BP). Экспериментальную работу проводили на образцах препаратов диосмина – таблетках, покрытых пленочной оболочкой, в дозировке 500 и 1000 мг, отечественных и зарубежных производителей. Исследование осуществляли методом ВЭЖХ с УФ-детектированием на жидкостном хроматографе Agilent 1260 Infinity II DAD System. Хроматографирование проводили

**Таблица 1.** Требования по содержанию родственных примесей в субстанции диосмина в зарубежных фармакопеях

**Table 1.** Foreign pharmacopoeias' limits for related substances in the active ingredient diosmin

| Название примеси<br><i>Impurity name</i>                                          |                                              | Нормы по USP <sup>4</sup> и BP <sup>5</sup><br><i>Limits according to USP<sup>4</sup> and BP<sup>5</sup></i> | Нормы по Ph. Eur. <sup>6</sup><br><i>Limits according to Ph. Eur.<sup>6</sup></i> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Примесь А<br><i>Impurity A</i>                                                    | Ацетоизованиллон<br><i>Acetoisovanillone</i> | ≤1%                                                                                                          | ≤0,5%                                                                             |
| Примесь В<br><i>Impurity B</i>                                                    | Гесперидин<br><i>Hesperidin</i>              | ≤5%                                                                                                          | ≤4,0%                                                                             |
| Примесь С<br><i>Impurity C</i>                                                    | Изорхойфолин<br><i>Isorhoifolin</i>          | ≤3%                                                                                                          | ≤3,0%                                                                             |
| Примесь D<br><i>Impurity D</i>                                                    | 6-йододиосмин<br><i>6-iododiosmin</i>        | –                                                                                                            | ≤0,6%                                                                             |
| Примесь E<br><i>Impurity E</i>                                                    | Линарин<br><i>Linarin</i>                    | ≤3%                                                                                                          | ≤3,0%                                                                             |
| Примесь F<br><i>Impurity F</i>                                                    | Диосметин<br><i>Diosmetin</i>                | ≤3%                                                                                                          | ≤2,0%                                                                             |
| Единичная неидентифицированная примесь<br><i>Individual unidentified impurity</i> |                                              | ≤1%                                                                                                          | ≤0,4%                                                                             |
| Сумма примесей<br><i>Total</i>                                                    |                                              | ≤10%                                                                                                         | ≤8,5%                                                                             |

<sup>4</sup> United States Pharmacopoeia. Diosmin.

<sup>5</sup> Diosmin. Monograph. British Pharmacopoeia. London; 2009.

<sup>6</sup> Monograph 01/2017:1611. Diosmin. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.



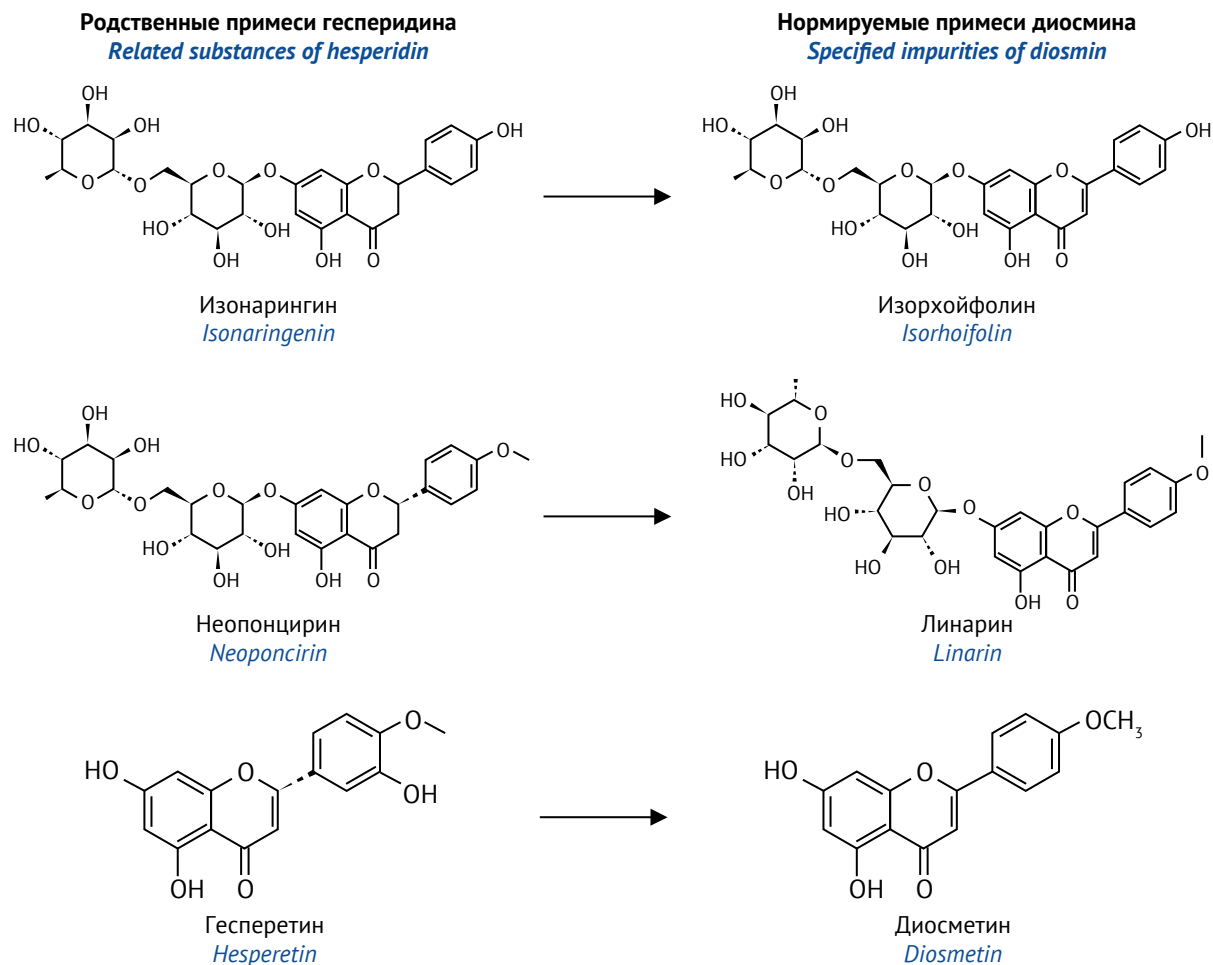


Рис. 1. Образование нормируемых примесей в диосмине из родственных примесей гесперидина

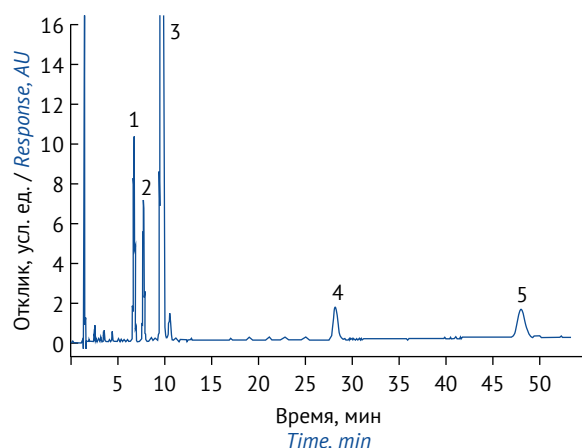
Fig. 1. Formation of specified impurities in diosmin from hesperidin-related substances

на обращенно-фазовой колонке, заполненной силикагелем октадецилсилильным для хроматографии (C18), размер колонки 100×4,6 мм, размер частиц 3 мкм. Детектирование осуществляли с помощью спектрофотометрического детектора при длине волны 275 нм. Скорость потока — 1,5 мл/мин, температура колонки — 40 °С. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила, уксусной кислоты ледяной, метанола и воды в объемном соотношении 2:6:28:66.

В качестве стандартных растворов использовали раствор стандартного образца диосмина (квалификации USP RS с содержанием действующего вещества 0,989 мг/мг) с концентрацией 1,0 мг/мл и стандартного образца гесперидина (гесперидин квалификации EP CRS с содержанием действующего вещества 88,9%) с концентрацией 0,05 мг/мл. Испытуемый раствор с концентрацией диосмина около 1,0 мг/мл готовили путем добавления к навеске растертых таблеток

диметилсульфоксида (Scharlau, кат. № SU0165) и нагревания смеси при температуре 85–95 °С не менее 45 мин.

Идентификацию пиков проводили по раствору стандартного образца диосмина (для проверки пригодности хроматографической системы квалификации EP CRS для идентификации примесей А, В, С, D, Е и F (табл. 1)) и по относительным временам удерживания: ацетоизованиллон — 0,5; гесперидин — 0,6; изорхойфолин — 0,8; диосмин — 1; 6-йододиосмин — 2,2; линарин — 2,8; диосметин — 4,5 (рис. 2). Пригодность хроматографической системы оценивали по хроматограмме стандартного образца диосмина по следующим параметрам: значение асимметрии пика диосмина — 1,05; эффективность колонки по пику диосмина 12 028 теоретических тарелок; относительное стандартное отклонение площади пика диосмина — 0,4; критерий разделения пиков гесперидина и изорхойфолина — 3,3.



**Рис. 2.** Хроматограмма испытуемого раствора лекарственного препарата диосмина, таблетки (порядок выхода пиков: 1 – гесперидин, 2 – изорхойфолин, 3 – диосмин, 4 – линарин, 5 – диосметин)

**Fig. 2.** A typical chromatogram of a test solution of diosmin tablets, showing hesperidin (1), isorhoifolin (2), diosmin (3), linarin (4), and diosmetin (5) peaks in the order of elution

Экспериментальная часть исследования включала определение родственных примесей и содержания диосмина в образцах препаратов, содержащих диосмин, методом ВЭЖХ с использованием подходов, описанных в Ph. Eur.<sup>7</sup> Расчет содержания примесей изорхойфолина, линарина, диосметина проводили в пересчете на гесперидин. Статистическую обработку экспериментальных данных исследований (доверительная вероятность  $P = 95\%$ ) проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» ГФ РФ XIV изд. с помощью валидированных программ статистической обработки экспериментальных данных (Microsoft Excel) с вычислением граничных значений доверительного интервала среднего результата и определением ошибки единичного определения.

### Результаты и обсуждение

В ходе исследования была проведена систематизация подходов к стандартизации препаратов, содержащих диосмин, по показателям «Родственные примеси» и «Количественное определение». Выделены три возможных подхода к оценке содержания родственных примесей и количественного определения.

При первом подходе в показателе «Количественное определение» учитывается содержание диосмина (90%), сопутствующих

флавоноидов (гесперидин, изорхойфолин, линарин, диосметин) (10%), а также рассчитывается сумма флавоноидов (100%) путем арифметического сложения содержания диосмина и всех сопутствующих флавоноидов в пересчете на гесперидин. Расчет содержания примесей А, D и любой другой единичной неидентифицированной примеси нефлавоноидной природы проводится в показателе «Родственные примеси». Сумма всех примесей – не более 2%.

В рамках второго подхода в показателе «Родственные примеси» рассчитывают все примеси флавоноидной и нефлавоноидной природы: гесперидин, изорхойфолин, линарин, диосметин, ацетоизованиллон (примесь А), 6-йододиосмин (примесь D) и любые другие единичные неидентифицированные примеси, что в сумме не должно превышать 13%. В показателе «Количественное определение» наряду с расчетом диосмина (90%) повторно учитывают сумму флавоноидов гесперидина, изорхойфолина, линарина, диосметина (100%).

Третий подход предусматривает выделение в качестве отдельного показателя содержание суммы гесперидина, изорхойфолина, линарина, диосметина, а также суммы флавоноидов без учета диосмина в количестве не более 13%. Показатель «Родственные примеси» учитывает только единичные неидентифицированные примеси и их сумму не более 2%. В показателе «Количественное определение» нормируют содержание диосмина и суммы флавоноидов с повторным учетом результатов из показателя «Флавоноиды» (табл. 2).

В исследуемых образцах препаратов диосмина содержание родственных примесей, не относящихся к сопутствующим флавоноидам, не превышает 2,0% (табл. 3). Примеси, относящиеся к соединениям со сходным фармакологическим эффектом, содержатся в количестве до 10%.

Таким образом, результаты анализа требований, предъявляемых к качеству препаратов, содержащих диосмин, и полученные нами экспериментальные данные позволяют рекомендовать подход, где сопутствующие флавоноиды (гесперидин, изорхойфолин, линарин, диосметин), вносящие вклад в фармакологическое действие препарата, нормируются в разделе «Количественное определение». Примеси, являющиеся побочным продуктом производства диосмина (примеси А и D), а также единичные неидентифицированные примеси и сумма

<sup>7</sup> Monograph 01/2017:1611. Diosmin. European Pharmacopeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.

Таблица 2. Возможные подходы к стандартизации препаратов, содержащих диосмин

Table 2. Requirements for standardisation of medicinal products containing diosmin

| № п/п<br>Item No. | Показатель<br>Parameter                   |                                                                                                                                             | Норма<br>Limits |
|-------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 1                 | Родственные примеси<br>Related substances | Примесь А<br>Impurity A                                                                                                                     | ≤1,0%           |
|                   |                                           | Примесь D<br>Impurity D                                                                                                                     | ≤1,0%           |
|                   |                                           | Любая единичная неидентифицированная примесь<br>Any individual unidentified impurity                                                        | ≤1,0%           |
|                   |                                           | Сумма примесей<br>Total impurities                                                                                                          | ≤ 2,0%          |
|                   | Количественное определение<br>Assay       | Диосмин<br>Diosmin                                                                                                                          | 90 ± 5%         |
|                   |                                           | Гесперидин (примесь В)<br>Hesperidin (impurity B)                                                                                           | ≤6,0%           |
|                   |                                           | Изорхойфолин (примесь С)<br>Isorhoifolin (impurity C)                                                                                       | ≤3,0%           |
|                   |                                           | Линарин (примесь Е)<br>Linarin (impurity E)                                                                                                 | ≤3,0%           |
|                   |                                           | Диосметин (примесь F)<br>Diosmetin (impurity F)                                                                                             | ≤3,0%           |
|                   |                                           | Диосмин и сумма флавоноидов в пересчете на гесперидин<br>Diosmin and total flavonoids expressed as hesperidin                               | 100±5%          |
| 2                 | Родственные примеси<br>Related substances | Примесь А<br>Impurity A                                                                                                                     | ≤1,0%           |
|                   |                                           | Примесь В<br>Impurity B                                                                                                                     | ≤5,0%           |
|                   |                                           | Примесь С<br>Impurity C                                                                                                                     | ≤3,0%           |
|                   |                                           | Примесь D<br>Impurity D                                                                                                                     | ≤0,6%           |
|                   |                                           | Примесь E<br>Impurity E                                                                                                                     | ≤3,0%           |
|                   |                                           | Примесь F<br>Impurity F                                                                                                                     | ≤3,0%           |
|                   |                                           | Единичная неидентифицированная примесь<br>Individual unidentified impurity                                                                  | ≤1,0%           |
|                   |                                           | Сумма неидентифицированных примесей и примеси А, не относящихся к флавоноидам<br>Total non-flavonoid unidentified impurities and impurity A | ≤2,0%           |
|                   |                                           | Сумма примесей<br>Total impurities                                                                                                          | ≤13,0%          |
|                   | Количественное определение<br>Assay       | Диосмин<br>Diosmin                                                                                                                          | 90±5%           |
|                   |                                           | Суммарное содержание флавоноидов<br>Total flavonoids                                                                                        | 100±5%          |
| 3                 | Родственные примеси<br>Related substances | Любая единичная примесь<br>Any individual impurity                                                                                          | ≤1%             |
|                   |                                           | Сумма примесей<br>Total impurities                                                                                                          | ≤2%             |

Продолжение таблицы 2

Table 2 (continued)

| № п/п<br><i>Item No.</i> | Показатель<br><i>Parameter</i>                |                                                                                 | Норма<br><i>Limits</i> |
|--------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| 3                        | Флавоноиды<br><i>Flavonoids</i>               | Гесперидин<br><i>Hesperidin</i>                                                 | ≤6%                    |
|                          |                                               | Изорхойфолин<br><i>Isorhoifolin</i>                                             | ≤3%                    |
|                          |                                               | Линарин<br><i>Linarin</i>                                                       | ≤3%                    |
|                          |                                               | Диосметин<br><i>Diosmetin</i>                                                   | ≤3%                    |
|                          |                                               | Сумма флавоноидов (без диосмина)<br><i>Total flavonoids (excluding diosmin)</i> | 6–13%                  |
|                          | Количественное<br>определение<br><i>Assay</i> | Диосмин<br><i>Diosmin</i>                                                       | 90 ± 5%                |
|                          |                                               | Сумма флавоноидов<br><i>Total flavonoids</i>                                    | 100 ± 5%               |

Таблица 3. Результаты анализа препаратов диосмина по показателям «Родственные примеси» и «Количественное определение»

Table 3. The results of diosmin tablets testing for Related substances and Assay

| Показатели<br><i>Parameters</i>                         |                                                                                                                             | Норма <sup>8</sup><br><i>Limits<sup>8</sup></i>              | Таблетки, покрытые<br>пленочной оболочкой,<br>1000 мг<br><i>Film-coated tablets,<br/>1000 mg</i> | Таблетки, покрытые<br>пленочной<br>оболочкой, 500 мг<br><i>Film-coated tablets,<br/>500 mg</i> |
|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Родственные<br>примеси<br><i>Related<br/>substances</i> | Ацетоизованиллон (примесь А)<br><i>Acetoisovanillone (impurity A)</i>                                                       | ≤1,0%                                                        | 0,05%                                                                                            | Не обнаружены<br><i>Not detected</i>                                                           |
|                                                         | 6-йододиосмин (примесь D)<br><i>6-iododiosmin (impurity D)</i>                                                              | ≤1,0                                                         | 0,6%                                                                                             | Не обнаружены<br><i>Not detected</i>                                                           |
|                                                         | Любая единичная неидентифицированная<br>примесь<br><i>Any individual unidentified impurity</i>                              | ≤ 1,0%                                                       | 0,1; 0,6; 0,05; 0,07;<br>0,1%*                                                                   | 0,5%                                                                                           |
|                                                         | Сумма примесей<br><i>Total impurities</i>                                                                                   | ≤ 2,0%                                                       | 1,6%                                                                                             | 0,5%                                                                                           |
| Количественное<br>определение<br><i>Assay</i>           | Диосмин<br><i>Diosmin</i>                                                                                                   | 90±5%                                                        | 86,4%                                                                                            | 90,1%                                                                                          |
|                                                         | Флавоноиды<br><i>Flavonoids</i>                                                                                             | Гесперидин (примесь В)<br><i>Hesperidin (impurity B)</i>     | ≤ 6,0%                                                                                           | 4,3%                                                                                           |
|                                                         |                                                                                                                             | Изорхойфолин (примесь С)<br><i>Isorhoifolin (impurity C)</i> | ≤ 3,0%                                                                                           | 2,2%                                                                                           |
|                                                         |                                                                                                                             | Линарин (примесь Е)<br><i>Linarin (impurity E)</i>           | ≤ 3,0%                                                                                           | 0,5%                                                                                           |
|                                                         |                                                                                                                             | Диосметин (примесь F)<br><i>Diosmetin (impurity F)</i>       | ≤ 3,0%                                                                                           | 9,3%                                                                                           |
|                                                         | Диосмин и сумма флавоноидов в пересчете<br>на гесперидин<br><i>Diosmin and total flavonoids expressed as<br/>hesperidin</i> |                                                              | 100±5%                                                                                           | 96%                                                                                            |

\* обнаружены примеси пяти различных соединений.

\* five different impurities were detected.

<sup>8</sup> Monograph 01/2017:1611. Diosmin. European Pharmacopeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.

**Таблица 4.** Рекомендации по включению показателей в нормативную документацию препаратов, содержащих диосмин

**Table 4.** Recommended requirements for regulatory standards and specifications for medicinal products containing diosmin

| Показатели<br><i>Parameters</i>                  |                                                                                                                      | Норма<br><i>Limits</i>                                       |          |
|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------|
| Родственные примеси<br><i>Related substances</i> | Ацетоизованиллон (примесь A)<br><i>Acetoisovanillone (impurity A)</i>                                                | ≤1,0%                                                        |          |
|                                                  | 6-йододиосмин (примесь D)<br><i>6-iododiosmin (impurity D)</i>                                                       | ≤1,0%                                                        |          |
|                                                  | Любая единичная неидентифицированная примесь<br><i>Any individual unidentified impurity</i>                          | ≤1,0%                                                        |          |
|                                                  | Сумма примесей<br><i>Total impurities</i>                                                                            | ≤2,0%                                                        |          |
| Количественное определение<br><i>Assay</i>       | Диосмин<br><i>Diosmin</i>                                                                                            | 90 ± 5%                                                      |          |
|                                                  | Флавоноиды<br><i>Flavonoids</i>                                                                                      | Гесперидин (примесь B)<br><i>Hesperidin (impurity B)</i>     | ≤6,0%    |
|                                                  |                                                                                                                      | Изорхойфолин (примесь C)<br><i>Isorhoifolin (impurity C)</i> | ≤3,0%    |
|                                                  |                                                                                                                      | Линарин (примесь E)<br><i>Linarin (impurity E)</i>           | ≤3,0%    |
|                                                  |                                                                                                                      | Диосметин (примесь F)<br><i>Diosmetin (impurity F)</i>       | ≤3,0%    |
|                                                  | Диосмин и сумма флавоноидов в пересчете на гесперидин<br><i>Diosmin and total flavonoids expressed as hesperidin</i> |                                                              | 100 ± 5% |

примесей нормируются в разделе «Родственные примеси».

С целью гармонизации подходов к стандартизации лекарственных препаратов, содержащих диосмин, рационально включить в нормативную документацию и проект ФС ГФ РФ требования, приведенные в таблице 4.

### Заключение

Сравнительный анализ требований нормативной документации на лекарственные препараты, содержащие диосмин, показал различие в подходах к расчету содержания родственных

примесей и действующих веществ. Поскольку сопутствующие флавоноиды (гесперидин, изорхойфолин, линарин, диосметин) обладают тем же фармакологическим действием, что и диосмин, то оценку их содержания предложено проводить при анализе препаратов по показателю «Количественное определение». В разделе «Родственные примеси» рекомендуем нормировать только примеси А и D, единичные неидентифицированные примеси и их сумму. Данный подход предлагаем использовать при разработке нормативной документации и проекта ФС ГФ РФ на лекарственные препараты, содержащие диосмин.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Тараховский ЮС, Ким ЮА, Абдрасилов БС, Музафаров ЕН. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пушино: Synchronbook; 2013. [Tarakhovsky YuS, Kim YuA, Abdrasilov BS, Muzafarov EN. *Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine*. Pushchino: Synchronbook; 2013 (In Russ.)]
2. Teucrium chamaedrys L. — Дубровник обыкновенный. В кн.: Губанов ИА, Киселева КВ, Новиков ВС, Тихомиров ВН. *Иллюстрированный определитель растений Средней России*. Т. 3. М.: Товарищество научных изданий КМК; 2004. С. 158. [Teucrium chamaedrys L. — Wall germander. In: Gubanov IA, Kiseleva KV, Novikov VS, Tikhomirov VN. *Illustrated guide to plants of Central Russia*. V. 3. Moscow: Association of scientific publications of KMK; 2004. P. 158 (In Russ.)]
3. Oesterle OA, Wander G. Über das „Hesperidin“ einiger Pflanzen. *Helv Chim Acta*. 1925;8(1):519–36. <https://doi.org/10.1002/hlca.19250080179>
4. Талибов ОБ. Диосмин в лечении венозной патологии: основы фармакокинетики и фармакодинамики. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2019;(3):135–40. [Talibov OB. Diosmin in the treatment of venous disease: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova* =



- Pirogov Journal of Surgery*. 2019;(3):135–40 (In Russ.))  
<https://doi.org/10.17116/hirurgia2019031135>
5. Иванова ЕВ, Черешнева НД. Ангиопротекторы: диосмин, диосмин+гесперидин. Сравнительная характеристика лекарственных препаратов. В кн.: *Современные проблемы медицины и естественных наук*. Сборник статей международной научной конференции. Йошкар-Ола: Марийский государственный университет; 2019. С. 94–7. [Ivanova EV, Cheresheva ND. Angioprotectors: diosmin, diosmin+hesperidin. Comparative characteristics of drugs. In: *Modern problems of medicine and natural sciences*. Collection of articles of the international scientific conference. Yoshkar-Ola: Mari State University; 2019. P. 94–7 (In Russ.)]
  6. Стойко ЮМ, Цыплящук АВ, Крыжановский СМ, Маркин СМ. Терапия диосмином при хронических заболеваниях вен в условиях амбулаторной практики: результаты неинтервенционного исследования СТАТУС. *Флебология*. 2020;14(3):230–6. [Stoyko YuM, Tsyplyashchuk AV, Kryzhanovskiy SM, Markin SM. Diosmin therapy for chronic vein diseases in outpatient settings: results of non-intervention STATUS study. *Flebologia = Phlebology*. 2020;14(3):230–6 (In Russ.)]  
<https://doi.org/10.17116/flebo202014031230>
  7. Каторкина ЕС, Липатов ИС, Тезиков ЮВ, Жернакова ЕВ, Степнова МВ. Эффективность применения диосмина для профилактики прогрессирования венозной недостаточности и нарушений гемостаза при менопаузальной гормональной терапии. В кн.: *ГБУЗ СО «Самарская городская клиническая поликлиника № 15» Г.О. Самара: 70 лет созидания и развития — к новым достижениям*. Сборник научных работ научно-практической конференции. Самара: Самарский государственный медицинский университет; 2018. С. 195–6. [Katorkina ES, Lipatov IS, Tezikov YuV, Zhernakova EV, Stepnova MV. The effectiveness of diosmin for the prevention of progression of venous insufficiency and hemostasis disorders in menopausal hormone therapy. In: *Samara City Clinic No. 15: 70 years of creation and development — to new achievements*. Collection of scientific works of the scientific-practical conference. Samara: Samara State Medical University; 2018. P. 195–6 (In Russ.)]
  8. Del Río JA, Fuster MD, Gómez P, Porras I, García-Lidón A, Ortuño A. Citrus limon: a source of flavonoids of pharmaceutical interest. *Food Chem*. 2004;84(3):457–61.  
[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00272-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00272-3)
  9. Tanaka T, Tanaka T, Tanaka M, Kuno T. Cancer chemoprevention by citrus pulp and juices containing high amounts of  $\beta$ -cryptoxanthin and hesperidin. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:516981.  
<https://doi.org/10.1155/2012/516981>
  10. Al-Ashaal HA, El-Sheltawy ST. Antioxidant capacity of hesperidin from Citrus peel using electron spin resonance and cytotoxic activity against human carcinoma cell lines. *Pharm Biol*. 2011;49(3):276–82.  
<https://doi.org/10.3109/13880209.2010.509734>
  11. Еремин КИ, Семенов АС, Чернышев ВВ, Пирогов СВ. Промышленный способ получения фармакопейного диосмина и его кристаллическая форма (варианты). Патент Российской Федерации № 2481353 C1; 2011. [Eremkin KI, Semenov AS, Chernyshev VV, Pirogov SV. Commercial method for preparing officinal diosmin and crystalline from thereof (versions). Patent of the Russian Federation No. 2481353 C1; 2011 (In Russ.)]
  12. Закрытое акционерное общество «Канонфарма продакшн». Твердая лекарственная форма диосмина. Патент Российской Федерации № 2314812 C2; 2005. [Kanonfarma Production. Diosmin solid medicinal formulation. Patent of the Russian Federation No. 2314812 C2; 2005 (In Russ.)]
  13. Алексеенко ПВ. Комбинированная мягкая лекарственная форма диосмина и троксерутина. Патент Российской Федерации № 2689409 C1; 2018. [Alekseenko PV. Combined soft dosage form of diosmin and troxerutin. Patent of the Russian Federation No. 2689409 C1; 2018 (In Russ.)]
  14. Кириенко АИ, Богачев ВЮ, Золотухин ИА, Голованова ОВ. Полусинтетический диосмин (Флебодиа 600) в лечении хронической венозной недостаточности нижних конечностей. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2006;12(2):73–5. [Kirienko AT, Bogachev VYu, Zolotukhin IA, Golovanova OV. Semisynthetic diosmin (Phlebodia 600) for therapy of lower limb chronic venous insufficiency. *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya = Angiology and vascular surgery*. 2006;12(2):73–5 (In Russ.)]

**Вклад авторов.** Н.П. Антонова — концепция и дизайн работы, критический пересмотр содержания текста рукописи; Е.П. Шефер — концепция работы, написание текста рукописи и критический пересмотр его содержания; С.С. Прохвятилова — оценка полученных экспериментальных данных; Н.Е. Семенова — проведение экспериментальных исследований методом ВЭЖХ; В.Н. Макухин — редактирование текста рукописи, работа с графическим материалом; С.А. Кучугурин — проведение экспериментальных исследований методом ВЭЖХ; М.С. Зотова — сбор данных литературы.

**Authors' contributions.** Natalia P. Antonova — elaboration of the study concept and design, critical revision of the manuscript content; Elena P. Shefer — elaboration of the study concept, writing of the text and critical revision of the manuscript content; Svetlana S. Prokhvatilova — evaluation of the experimental data obtained in the study; Natalia E. Semenova — experimental part of the study (HPLC); Viktor N. Makukhin — editing of the manuscript and graphical material; Sergey A. Kuchugurin — experimental part of the study (HPLC); Mariya S. Zotova — collection of literature data.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-22-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Acknowledgements.** The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00001-22-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

#### ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Антонова Наталия Петровна**, канд. биол. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7818-5303>  
[nantonova@expmed.ru](mailto:nantonova@expmed.ru)

**Шефер Елена Павловна**, канд. фарм. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8389-4799>  
[shefer@expmed.ru](mailto:shefer@expmed.ru)

**Прохвятилова Светлана Степановна**, канд. фарм. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3278-1994>  
[prokhvatilova@expmed.ru](mailto:prokhvatilova@expmed.ru)

**Семенова Наталья Евгеньевна**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6787-0647>  
[semenova@expmed.ru](mailto:semenova@expmed.ru)

**Макухин Виктор Николаевич**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2845-1060>  
[makuhin@expmed.ru](mailto:makuhin@expmed.ru)

**Кучугурин Сергей Александрович**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9439-9611>  
[kuchugurin@expmed.ru](mailto:kuchugurin@expmed.ru)

**Зотова Мария Сергеевна**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0743-0420>  
[zotovams@expmed.ru](mailto:zotovams@expmed.ru)

**Natalia P. Antonova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7818-5303>  
[nantonova@expmed.ru](mailto:nantonova@expmed.ru)

**Elena P. Shefer**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8389-4799>  
[shefer@expmed.ru](mailto:shefer@expmed.ru)

**Svetlana S. Prokhvatilova**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3278-1994>  
[prokhvatilova@expmed.ru](mailto:prokhvatilova@expmed.ru)

**Natalia E. Semenova**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6787-0647>  
[semenova@expmed.ru](mailto:semenova@expmed.ru)

**Viktor N. Makukhin**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2845-1060>  
[makuhin@expmed.ru](mailto:makuhin@expmed.ru)

**Sergey A. Kuchugurin**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9439-9611>  
[kuchugurin@expmed.ru](mailto:kuchugurin@expmed.ru)

**Mariya S. Zotova**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0743-0420>  
[zotovams@expmed.ru](mailto:zotovams@expmed.ru)

*Поступила 16.12.2021*

*После доработки 16.03.2022*

*Принята к публикации 07.06.2022*

*Online first 30.06.2022*

*Received 16 December 2021*

*Revised 16 March 2022*

*Accepted 7 June 2022*

*Online first 30.06.2022*



В.М. Шукин   
А.А. Ерина   
Ю.Н. Швецова   
Е.С. Жигилей   
Н.Е. Кузьмина 

## Селективное определение органических и неорганических форм мышьяка в слоевищах ламинарии и продуктах на их основе

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

✉ Шукин Виктор Михайлович; [Schukin@expmed.ru](mailto:Schukin@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

Ламинария способна накапливать соединения мышьяка в больших количествах даже при отсутствии заметного загрязнения окружающей среды. Из-за существенных различий в токсичности органических и неорганических соединений мышьяка при оценке риска потребления слоевищ ламинарии и продуктов на их основе актуально учитывать форму его содержания.

**Цель работы:** разработка методики селективного определения содержания органических и неорганических форм мышьяка в слоевищах ламинарии без использования прекурсоров наркотических веществ на основе методов масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) и твердофазной экстракции.

**Материалы и методы:** в работе были использованы образцы слоевищ *Laminaria saccharina* и *Laminaria japonica*, модельные смеси соединений мышьяка с различной степенью окисления, биологически активные добавки к пище на основе слоевищ ламинарии. Твердофазную экстракцию проводили на картриджах Maxi-Clean SAX. Содержание мышьяка определяли с помощью масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7900.

**Результаты:** установлено, что микроволновая экстракция деионизированной водой обеспечивает полноту извлечения мышьяк-содержащих соединений на уровне 91%. Добавление в экстрагент пероксида водорода приводит к полному извлечению соединений мышьяка из слоевищ ламинарии. Использование при твердофазной экстракции смеси органических и неорганических соединений мышьяка элюента на основе 3% пероксида водорода позволяет извлечь органическую фракцию, не смывая при этом с картриджа неорганические соединения мышьяка.

**Выводы:** разработана методика селективного количественного определения содержания органических и неорганических форм мышьяка в слоевищах ламинарии и продуктах на их основе, позволяющая выделять мышьяк-содержащие соединения из органической матрицы ламинарии исключительно раствором 3% пероксида водорода. Использование этого экстрагента позволяет эффективно разделять органическую и неорганическую фракции на этапе твердофазной экстракции без стадии нейтрализации испытуемого раствора.

**Ключевые слова:** слоевища ламинарии; неорганическая форма мышьяка; органическая форма мышьяка; селективное определение; твердофазная экстракция; масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой

**Для цитирования:** Шукин В.М., Ерина А.А., Швецова Ю.Н., Жигилей Е.С., Кузьмина Н.Е. Селективное определение органических и неорганических форм мышьяка в слоевищах ламинарии и продуктах на их основе. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2023;13(2):206–215. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-522>

V.M. Shchukin   
A.A. Erina   
Yu.N. Shvetsova   
E.S. Zhigilei   
N.E. Kuz'mina 

## Selective Quantification of Organic and Inorganic Arsenic in Kelp Thalli and Kelp-Based Products

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

✉ Victor M. Shchukin; [Schukin@expmed.ru](mailto:Schukin@expmed.ru)

### ABSTRACT

Kelp can accumulate large quantities of arsenic compounds even in the absence of considerable environmental pollution. A substantial difference in toxicity between organic and inorganic arsenic compounds makes the form of arsenic relevant for the risk assessment of consuming kelp thalli and kelp-based products.

**The aim of the study** was to develop an analytical procedure for the selective quantification of organic and inorganic arsenic in kelp thalli by inductively coupled plasma mass spectrometry and solid-phase extraction without scheduled precursors.

**Materials and methods.** The authors studied samples of *Laminaria saccharina* and *Laminaria japonica*, spiking mixtures of chemical compounds containing arsenic in different oxidation states, and bioactive dietary supplements based on kelp thalli. Solid-phase extraction was performed using Maxi-Clean SAX cartridges. The arsenic content was determined using an Agilent 7900 inductively coupled plasma mass spectrometer.

**Results.** Microwave-assisted extraction with deionised water ensures 91% recovery of arsenic-containing compounds from kelp thalli, and the addition of hydrogen peroxide to the extractant provides complete extraction. Solid-phase extraction with an eluent based on 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> can extract the organic fraction from a mixture of organic and inorganic arsenic compounds without washing the inorganic fraction off the cartridge.

**Conclusions.** The authors offer an effective analytical procedure for the selective quantification of organic and inorganic arsenic in kelp thalli and kelp-based products. This procedure allows for the isolation of arsenic-containing compounds from the organic matrix of kelp with 3% hydrogen peroxide. Solid-phase extraction with this extractant can effectively separate organic and inorganic fractions without prior neutralisation of the test solution.

**Key words:** kelp thalli; inorganic arsenic; organic arsenic; selective quantification; solid phase extraction; inductively coupled plasma mass spectrometry

**For citation:** Shchukin V.M., Erina A.A., Shvetsova Yu.N., Zhigilei E.S., Kuz'mina N.E. Selective quantification of organic and inorganic arsenic in kelp thalli and kelp-based products. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):206–215. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-522>

### Введение

Бурые водоросли широко используются в медицине в виде лекарственных растительных препаратов, биологически активных добавок к пище (БАД), а также в фармацевтической, косметической и пищевой промышленности в качестве источника биологически активных минеральных и органических соединений [1–6]. Бурые водоросли являются одним из важнейших источников йода для организма человека [7].

Характерной особенностью бурых водорослей, в том числе ламинариевых, является

способность накапливать в больших количествах соединения мышьяка даже при отсутствии заметного загрязнения окружающей среды [8–11]. В связи с этим в Государственную фармакопею Российской Федерации (ГФ РФ) введена норма допустимого содержания мышьяка в ламинариевых водорослях, которая в 180 раз превышает такую же норму для других видов лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов (ЛРП): 90 мг/кг<sup>1</sup> и 0,5 мг/кг<sup>2</sup> соответственно.

<sup>1</sup> ФС 2.5.0080.18 Ламинарии слоевища (морская капуста). Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М.; 2018.

<sup>2</sup> ОФС 1.5.3.009.15 Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

Соединения мышьяка, входящие в состав слоевищ ламинарии, разделяют на неорганические и органические формы. Неорганические формы включают в себя арсениты и арсенаты (суммарно несколько процентов от содержания общего мышьяка) [12]. Органические формы мышьяка представлены арсеносахарами в виде арсеносахарофосфатов и арсеносахаросульфонов, а также арсенобетаином, монометиларсоновой кислотой и диметиларсоновой кислотой [12].

Поскольку токсичность большинства органических форм мышьяка (oAs) во много раз меньше токсичности его неорганических соединений (iAs) [13–15], принято нормировать исключительно iAs в ЛРС и ЛРП. Например, согласно Фармакопее США (USP) нормируют содержание только iAs в препаратах растительного происхождения<sup>3</sup>. Международный совет по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH) в руководстве по элементарным примесям<sup>4</sup> также приводит требования к допустимому содержанию iAs в ЛРС и ЛРП исключительно для iAs. Однако исследования последнего десятилетия показали, что короткоживущие промежуточные метаболиты oAs в организме теплокровных обладают цитотоксичностью, превышающей токсичность iAs [14–17], поэтому в настоящее время все чаще используют селективное определение содержания iAs и oAs в ЛРС и ЛРП [18]. Таким образом, представляется актуальным разработать эффективную методику селективного определения содержания oAs и iAs в ЛРС бурых водорослей семейства ламинариевых (*Laminariaceae*), которые являются фармакопейными видами в России.

Для разделения oAs и iAs в биологических объектах и воде существует несколько общепринятых методик [19]. Самой простой является выделение iAs с помощью кислотной экстракции при кипячении в аппарате Сокслета с последующим полуколичественным колориметрическим определением содержания мышьяка<sup>5</sup> по интенсивности окрашивания испытуемого раствора. Использование спектральных методов анализа вместо колориметрического позволяет перейти к количественным измерениям, однако данный метод экстракции в аппарате Сокслета плохо

подходит для определения малых концентраций неорганического мышьяка. В качестве экстрагента, как правило, используют соляную кислоту, являющуюся прекурсором наркотических веществ. Кроме того, при использовании кислотной экстракции образуется токсичный гидрид мышьяка – арсин [20].

На образовании и улавливании арсина, полученного в реакциях с различными модификаторами, основаны также методики прямого анализа с использованием спектральных методов. Химические модификаторы (например, соли палладия, циркония, церия) позволяют перевести в арсин либо oAs, либо iAs. Выбор подходящего модификатора зависит от органической матрицы исследуемого образца [21, 22].

Наиболее перспективными являются методики, основанные на экстракции соединений мышьяка из органической матрицы с последующими разделением и идентификацией их спектральными методами [20]. Максимальную чувствительность и информативность обеспечивает сочетание жидкостного хроматографа и масс-спектрометрического детектора с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС), предусматривающее предварительную экстракцию соединений мышьяка различными методами [15, 19, 23–26]. Аппаратурное оснащение для таких методик является дорогостоящим. Кроме того, требуются стандартные образцы идентифицируемых мышьяк-содержащих соединений и большое количество растворителя.

Более простыми и дешевыми, но при этом мало уступающими в чувствительности, являются методики, основанные на твердофазном разделении oAs и iAs с последующим определением их содержания различными спектральными методами (преимущественно атомной абсорбцией с электротермическим атомизатором, ИСП-МС или рентгенофлуоресцентной спектрометрией) [27–31].

В большинстве описанных методик селективно определяют содержание iAs, содержание органических форм рассчитывают по разнице между содержанием общего As и iAs. Для выделения мышьяка из органической матрицы используют различные методы экстракции и экстрагенты, а также их комбинации<sup>6</sup> [19, 21, 26, 28].

<sup>3</sup> <561> Articles of botanical origin. United States Pharmacopeia. USP43–NF38 Second Supplement; 2022.

<sup>4</sup> ICH guideline Q3D (R2) on elemental impurities. EMA/CHMP/ICH/353369/2013.

<sup>5</sup> <2232> Elemental contaminants in dietary supplements. USP43–NF38; 2021.

<sup>6</sup> EN 16278:2012 Animal feeding stuffs – Determination of inorganic arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS) after microwave extraction and separation by solid phase extraction (SPE). Brussels: European Committee for Standardization; 2012.



Наиболее распространена методика твердофазной экстракции неорганического мышьяка, применяемая в Европейском союзе<sup>7</sup>. В качестве основного экстрагента в данной методике используется соляная кислота — прекурсор наркотических веществ. Она же используется для сорбентного уравнивания картриджа и элюирования с него неорганических соединений мышьяка.

Цель работы — разработка методики селективного определения содержания органических и неорганических форм мышьяка в слоевищах ламинарии без использования прекурсоров наркотических веществ на основе методов ИСП-МС и твердофазной экстракции.

### Материалы и методы

Объектами исследования служили образцы слоевищ ламинарии японской (*Laminaria japonica*, син. *Saccharina japonica*), собранной в акватории залива Петра Великого, Тихий океан (I), и ламинарии сахаристой (*Laminaria saccharina*, син. *Saccharina latissima*), собранной в акватории Соловецкого острова Белого моря (II). Видовая принадлежность образцов была определена с помощью макро- и микроскопического анализа. Также было исследовано два образца БАД на основе слоевищ ламинарии: «Ламинария (морская капуста)», ЗАО «Эвалар» (III), и «Ламинария SUPERFOOD», ООО «Крон» (IV).

Ввиду отсутствия сертифицированных растительных материалов «слоевища ламинарии» с аттестованными значениями содержания в них различных форм As, эффективность разделения оAs и iAs оценивали с помощью растворов модельных смесей различного состава (MC-1, MC-2, MC-3) (табл. 1). Для приготовления модельных смесей применяли диметиларсиновую кислоту (Sigma-Aldrich, кат. № 20835), метаарсинит натрия (Sigma-Aldrich, кат. № S7400-100G),

гептагидрат гидроарсената натрия (Thermo Fisher Scientific, кат. № 10048-95-0). Растворы модельных смесей требуемой концентрации готовили с использованием 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

В ходе исследования были использованы следующие реактивы: пероксид водорода (30%, Merck, кат. № 1.07298), кислота азотная (69%, Ultratrace, Scharlau, кат. № 7697-37-2), соляная кислота (37%, ос.ч., ООО ТД «Химмед»), карбонат аммония (ACS, Sigma-Aldrich, кат. № 207861-100G), метанол (CARLO ERBA Reagents GmbH, кат. № 67-56-1), стандартный образец мышьяка (аттестованное значение 1000 мг/дм<sup>3</sup>, Supelco, кат. № 1.70303.0100), вода деионизованная, очищенная на установке Milli-Q — Integral 3 (Millipore).

При минерализации и экстракции проб слоевищ ламинарии использовали систему микроволновой подготовки проб ETHOS UP (Milestone). При твердофазной экстракции применяли обладающие сильными анионообменными свойствами картриджи Maxi-Clean SAX (S\*Pure). Для проведения экстракции картриджи были установлены в вакуумную камеру Visiprep DL (Supelco). Элементный анализ проводили с использованием масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7900 (Agilent Technologies).

**Методика микроволнового разложения образцов слоевищ ламинарии для определения содержания общего мышьяка.** Точную навеску массой около 0,5 г измельченного испытуемого образца, высушенного до постоянной массы при 105 °С в течение 2 ч, помещали в сосуд для микроволнового разложения, добавляли 8 мл азотной кислоты концентрированной и 2 мл H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, осторожно перемешивали до полного смачивания и помещали в микроволновую печь. Проводили минерализацию по программе, приведенной в таблице 2.

Таблица 1. Растворы модельных смесей с различным содержанием органических и неорганических форм мышьяка

Table 1. Solutions of spiking mixtures with different organic and inorganic arsenic content

| Модельная смесь<br>Spiking mixture | Концентрация, мг/л<br>Concentration, mg/L        |     |                                           |                                                                           |     |
|------------------------------------|--------------------------------------------------|-----|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-----|
|                                    | Диметиларсиновая кислота<br>Dimethylarsinic acid | oAs | Метаарсинит натрия<br>Sodium metaarsenite | Гептагидрат гидроарсената натрия<br>Sodium hydrogen arsenate heptahydrate | iAs |
| MC-1                               | 1,84                                             | 1   | 0                                         | 0                                                                         | 0   |
| MC-2                               | 0                                                | 0   | 0,87                                      | 2,08                                                                      | 1   |
| MC-3                               | 1,84                                             | 1   | 0,87                                      | 2,08                                                                      | 1   |

<sup>7</sup> EN 16278:2012 Animal feeding stuffs — Determination of inorganic arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS) after microwave extraction and separation by solid phase extraction (SPE). Brussels: European Committee for Standardization; 2012.

Таблица 2. Программа минерализации слоевищ ламинарии

Table 2. Mineralisation programme for kelp thalli

| Этап<br>Step | Время, мин<br>Time, min | Температура, °C<br>Temperature, °C |
|--------------|-------------------------|------------------------------------|
| 1            | 3                       | 20–80                              |
| 2            | 5                       | 80                                 |
| 3            | 10–15                   | 80–165                             |
| 4            | 30                      | 165                                |

Полученные после микроволнового разложения растворы охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через фильтр беззольный в мерные колбы объемом 25 мл, доводили объем раствора до метки водой деионизованной и перемешивали.

**Методика экстракции мышьяк-содержащих соединений из слоевищ ламинарии.** Точную навеску массой около 0,5 г измельченного и высушенного испытуемого образца помещали в сосуд для микроволнового разложения, добавляли 40 мл экстрагента, выдерживали 10 мин и проводили микроволновую экстракцию в течение 90 мин при 95 °C. В качестве экстрагента использовали растворы 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  в 0,07 М  $\text{HCl}$ , 1%  $\text{H}_2\text{O}_2$  в 0,05 М  $\text{HNO}_3$ , 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  в 0,07 М  $\text{HNO}_3$ , воду деионизованную, 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Полученный экстракт охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через фильтр беззольный в мерные колбы объемом 50 мл, осадок промывали 7,0 мл экстрагента и им же доводили объем раствора до метки. Полученный испытуемый раствор тщательно перемешивали.

**Методика твердофазной экстракции oAs и iAs.** Перед проведением твердофазной экстракции картриджи кондиционировали для активации сорбента, пропуская через них метанол в количестве 2 мл. Сорбентное уравнивание картриджа выполняли пропусканием 2 мл 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Для выделения oAs использовали смесь, содержащую 3 мл испытуемого раствора (или раствора модельной смеси) и 4 мл 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Значения pH смеси повышали, используя раствор 40 мМ карбоната аммония. После прохождения элюента через картридж со скоростью 1,0 мл/мин последний промывали 4 мл раствора 0,5 М уксусной кислоты. Растворы, прошедшие через картридж, объединяли и определяли в них содержание oAs. Сорбированную на картридже неорганическую фракцию мышьяка элюировали 5 мл 0,4 М раствора азотной кислоты. В элюенте, прошедшем через картридж, определяли содержание iAs.

**Методика определения содержания As методом ИСП-МС.** Определение содержания мышьяка проводили методом калибровочной кривой, используя для ее построения изотоп  $^{75}\text{As}$ . Параметры эксперимента: мощность высокочастотного генератора плазмы — 1500 Вт, поток плазменного газа (аргон) — 15 л/мин, поток газа распылителя (аргон) — 1,0 л/мин, скорость подачи пробы — 0,10 об/мин, время интегрирования — 0,1 с. Готовили по три параллельных испытуемых раствора каждого образца, определение содержания элементов проводили в пяти повторностях. Результаты измерений усредняли.

**Статистическую обработку результатов** осуществляли с помощью программы Microsoft Office Excel 2007 с установленным пакетом «Анализ данных». В таблицах 3–5 приведены средние арифметические значения результатов анализа.

### Результаты и обсуждение

Разрабатываемая методика включает три этапа: 1) экстракция мышьяк-содержащих соединений из органической матрицы слоевищ ламинарии; 2) разделение выделенных мышьяк-содержащих соединений на органические и неорганические формы с помощью твердофазной экстракции; 3) количественное определение oAs и iAs методом ИСП-МС.

Согласно данным литературы, разделение мышьяк-содержащих соединений на oAs и iAs методом твердофазной экстракции существенно зависит от pH элюента. В связи с этим, как правило, проводят три стадии разделения: сначала при pH 5,0–7,5 экстрагируют наиболее слабо сорбируемые на картридже соединения oAs, затем при pH 2,5 (0,5 М уксусной кислотой) экстрагируют мышьяк-содержащие органические кислоты, далее при pH 0,4 экстрагируют наиболее прочно сорбирующуюся на картридже неорганическую фракцию растворами 0,4 М азотной или соляной кислот [27, 28]. Этап выделения

мышьяк-содержащих соединений из органической матрицы проводят с использованием слабokonцентрированных растворов кислот (чаще всего используют 0,07 М раствор HCl или HNO<sub>3</sub>). К растворам кислот принято добавлять пероксид водорода для окисления As(III) до As(V), так как iAs(III), в отличие от iAs(V), не сорбируется на ионно-обменном картридже и вместе с органической фракцией переходит в элюат.

Следует отметить, что эффективность связывания мышьяк-содержащих соединений с органической матрицей растения во многом зависит от вида растения. Так, авторы [32] на примере лиофилизированных саргассовых водорослей, аттестованных на содержание As (сертифицированный растительный материал NIES<sup>8</sup> № 9), показали, что микроволновая экстракция деионизированной водой при 90 °C позволяет извлечь до 98% соединений мышьяка из данного семейства бурых водорослей. Замена кислоты на воду на стадии выделения соединений мышьяка из слоевищ ламинарии существенно упростила бы стадию твердофазной экстракции, так как водный испытуемый раствор, в отличие от кислотного, не нуждается в нейтрализации перед пропуском через картридж. Поэтому на первом этапе исследования мы сравнили степень извлечения мышьяк-содержащих соединений из слоевищ ламинарии кислотными экстрагентами и деионизированной водой. Полноту экстракции оценивали, сравнивая содержание As в испытуемом растворе с референсным значением содержания общего мышьяка, в качестве которого использовали данные, полученные при полной микроволновой минерализации

пробы слоевищ ламинарии. Результаты сравнения представлены в таблице 3.

Данные подтверждают (табл. 3), что использование воды в качестве экстрагента позволяет извлечь 91% соединений мышьяка из органической матрицы слоевищ ламинарии. Замена деионизированной воды раствором 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> приводит к полному извлечению соединений мышьяка. Результат экстракции мышьяк-содержащих соединений из органической матрицы слоевищ ламинарии раствором 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> сопоставим с результатом экстракции с помощью раствора 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в 0,07 М HNO<sub>3</sub>. Следует отметить, что оба варианта экстракции не приводят к превращению органических соединений в неорганические. При этом арсениты, сопоставимые с органическими соединениями по силе сорбции на картридже, практически полностью переходят в более прочно сорбирующиеся арсенаты [33]. Попытка сократить время эксперимента за счет перехода от одностадийной экстракции в течение 90 мин к трехстадийной экстракции по 10 мин каждая не привела к желаемому результату.

На следующем этапе исследований на модельных смесях проверяли степень разделения oAs и iAs методом твердофазной экстракции с использованием раствора 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Значения pH растворов, содержащих 3 мл модельной смеси и 4 мл 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5,39, 5,66 и 5,30 для MC-1, MC-2 и MC-3 соответственно), укладывались в интервал 5,0–7,5, при котором традиционно проводят первую стадию отделения oAs от iAs. Было установлено, что входящая в состав MC-1 и MC-3 диметиларсиновая кислота,

**Таблица 3.** Сравнительный анализ степени извлечения соединений мышьяка из слоевищ ламинарии при микроволновой экстракции (95 °C)

**Table 3.** Comparative analysis of the recovery of arsenic compounds from kelp thalli by microwave-assisted extraction (95 °C)

| Состав экстрагента<br><i>Extractant composition</i>        | Время экстракции, мин<br><i>Extraction time, min</i> | Степень извлечения, %<br><i>Recovery, %</i> |
|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 0,07 М HCl              | 90                                                   | 85±6                                        |
| 1% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 0,05 М HNO <sub>3</sub> | 90                                                   | 84±3                                        |
| 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 0,07 М HNO <sub>3</sub> | 90                                                   | 93±8                                        |
| H <sub>2</sub> O                                           | 90                                                   | 91±2                                        |
| 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                           | 30*                                                  | 83±3                                        |
| 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                           | 60                                                   | 87±3                                        |
| 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                           | 90                                                   | 102±4                                       |

\* Трехстадийная экстракция по 10 мин каждая.

\* Three extraction cycles, 10 min each.

<sup>8</sup> National Institute for Environmental Studies (NIES), Japan.

окисляющаяся под действием пероксида водорода до диметиларсоновой кислоты, не сорбируется на картридже, а полностью переходит в элюат. В смывах картриджа 0,5 М уксусной кислотой As не обнаружен. Неорганическая фракция не десорбируется с картриджа при использовании 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, но полностью переходит в элюат при промывке картриджа 0,4 М HNO<sub>3</sub>.

Результаты твердофазной экстракции модельных смесей представлены в таблице 4.

Присутствие диметиларсоновой кислоты в элюате при значении pH, близком к 5, позволяет предположить, что можно исключить стадию промывки картриджа уксусной кислотой. Для проверки данного предположения была изучена полнота разделения на картридже

**Таблица 4.** Разделение органической и неорганической форм мышьяка в модельных смесях методом твердофазной экстракции

**Table 4.** Separation of organic and inorganic arsenic from spiking mixtures by solid-phase extraction

| № образца<br><i>Sample No.</i> | Органическая форма мышьяка (oAs)<br><i>Organic arsenic (oAs)</i> |                                        |                                             | Неорганическая форма мышьяка (iAs)<br><i>Inorganic arsenic (iAs)</i> |                                        |                                             |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------|
|                                | Внесено, мг/л<br><i>Spiked, mg/L</i>                             | Найдено, мг/л<br><i>Measured, mg/L</i> | Степень извлечения, %<br><i>Recovery, %</i> | Внесено, мг/л<br><i>Spiked, mg/L</i>                                 | Найдено, мг/л<br><i>Measured, mg/L</i> | Степень извлечения, %<br><i>Recovery, %</i> |
| MC-1                           | 1                                                                | 0,96±0,06                              | 96±6                                        | 0                                                                    | 0                                      | –                                           |
| MC-2                           | 0                                                                | 0                                      | –                                           | 1                                                                    | 1,02±0,08                              | 102±8                                       |
| MC-3                           | 1                                                                | 1,10±0,10                              | 110±10                                      | 1                                                                    | 1,06±0,05                              | 106±5                                       |

**Примечание.** «–» – не применимо.

**Note.** –, not applicable.

**Таблица 5.** Сравнительный анализ содержания органических и неорганических форм мышьяка в слоевищах ламинарии и БАД на их основе

**Table 5.** Comparative analysis of organic and inorganic arsenic content of kelp thalli and kelp-based dietary supplements

| Объекты<br>исследования<br><i>Sample</i> | Содержание мышьяка<br><i>Arsenic content</i>                                                                       |                                                    |      |                                   |      |            |                                                              |      |                                                         |       |
|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|------|-----------------------------------|------|------------|--------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------|-------|
|                                          | Концентрация<br>испытуемого<br>раствора,<br>мкг/л<br><i>Test solution<br/>concentration,<br/>µg/L<br/>(RSD, %)</i> | Органическая форма (oAs)<br><i>Organic arsenic</i> |      |                                   |      |            | Неорганическая форма (iAs)<br><i>Inorganic arsenic (iAs)</i> |      | Содержание<br>общего<br>мышьяка<br><i>Total arsenic</i> |       |
|                                          |                                                                                                                    | Элюат<br><i>Eluate</i>                             |      | Смыв 1<br><i>Flush 1</i>          |      | Σ oAs<br>% | Смыв 2<br><i>Flush 2</i>                                     |      |                                                         |       |
|                                          |                                                                                                                    | мкг/л<br><i>µg/L<br/>(RSD, %)</i>                  | %    | мкг/л<br><i>µg/L<br/>(RSD, %)</i> | %    |            | мкг/л<br><i>µg/L<br/>(RSD, %)</i>                            | %    | мкг/л<br><i>µg/L</i>                                    | %     |
| I; pH 4,2                                | 543±69<br>(6,5)                                                                                                    | 425±31<br>(3,0)                                    | 78,3 | 91±20<br>(8,8)                    | 16,8 | 95,1       | 17±4<br>(10,9)                                               | 3,1  | 533                                                     | 98,2  |
| I; pH 5,4                                |                                                                                                                    | 464±92<br>(8,0)                                    | 85,5 | 63±22<br>(9,1)                    | 11,6 | 97,1       | 14±4<br>(16,1)                                               | 2,6  | 541                                                     | 99,7  |
| II, pH 4,0                               | 297±40<br>(5,4)                                                                                                    | 207±28<br>(5,5)                                    | 69,7 | 58±19<br>(9,5)                    | 19,5 | 89,2       | 47±4<br>(2,5)                                                | 15,9 | 312                                                     | 105,1 |
| II; pH 5,4                               |                                                                                                                    | 200±30<br>(9,4)                                    | 67,3 | 55±8<br>(6,0)                     | 18,5 | 85,3       | 58±12<br>(10,0)                                              | 19,5 | 313                                                     | 105,4 |
| III; pH 4,4                              | 111±16<br>(5,9)                                                                                                    | 80±15<br>(8,6)                                     | 72,1 | 28±5<br>(7,1)                     | 25,2 | 97,2       | 1,4±0,4<br>(20)                                              | 1,3  | 109,4                                                   | 98,6  |
| III; pH 5,4                              |                                                                                                                    | 93±20<br>(8,7)                                     | 83,8 | 21±5<br>(9)                       | 18,9 | 102,7      | 2±0,4<br>(20)                                                | 1,8  | 116                                                     | 104,5 |
| IV; pH 4,1                               | 106±13<br>(5,0)                                                                                                    | 84±12<br>(5,3)                                     | 79,2 | 22±8<br>(10)                      | 20,8 | 100,0      | 1±0,5<br>(20)                                                | 0,9  | 107                                                     | 100,9 |
| IV; pH 5,5                               |                                                                                                                    | 85±13<br>(5,9)                                     | 80,2 | 19±2<br>(4,1)                     | 17,9 | 98,1       | 0                                                            | 0    | 104                                                     | 98,1  |

**Примечание.** БАД – биологически активные добавки к пище, RSD – относительное стандартное отклонение.

**Note.** RSD, relative standard deviation.

испытуемого раствора, полученного после экстракции слоевищ ламинарии и БАД на их основе раствором 3%  $H_2O_2$  (табл. 4). Так как значения pH модельных смесей и  $H_2O_2$  близки к 4, измерения проводили при исходном значении pH для каждого образца и при pH близких к 5,5.

Из данных, представленных в таблице 5, следует, что стадия смыва картриджа раствором 0,5 М уксусной кислоты необходима для полного выделения органических соединений мышьяка. Можно отметить, что значения pH смеси, подвергающейся твердофазной экстракции, влияют на соотношение содержания оAs в элюате и смыве 1, при этом суммарное содержание оAs не меняется в диапазоне pH 4,0–5,5 с учетом неопределенности результатов измерения. Результаты определения iAs, полученные при различных значениях pH, также близки между собой. В целом общее содержание As, установленное в ходе твердофазной экстракции, соответствует его содержанию в испытуемом растворе независимо от pH исходной смеси. Таким образом, стадией нейтрализации смеси испытуемого раствора с 3%  $H_2O_2$  до pH 5,5±0,5 можно пренебречь.

Сравнительный анализ содержания общего As и его неорганических форм в различных видах бурых водорослей семейства ламинариевых свидетельствует, что слоевища *L. saccharina* характеризуются меньшим содержанием общего As и большим содержанием его неорганических форм по сравнению с *L. japonica*. В БАД на основе

слоевищ ламинарии содержание органических и неорганических форм As существенно меньше, чем в исходном сырье, то есть уровень его контаминации соединениями As существенно снижается в процессе переработки.

### Заключение

В результате проведенных исследований разработана простая и эффективная методика селективного количественного определения содержания органических и неорганических форм мышьяка в слоевищах ламинарии и продуктах на их основе методами твердофазной экстракции и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. Данная методика позволяет полностью выделять мышьяк-содержащие соединения из органической матрицы ламинарии исключительно раствором 3% пероксида водорода без использования соляной или азотной кислот. С применением этого экстрагента удается эффективно разделять органическую и неорганическую фракции мышьяка на этапе твердофазной экстракции без стадии нейтрализации испытуемого раствора. Разработанную методику рекомендуется использовать при оценке рисков негативного воздействия элементарных контаминантов, попадающих в организм человека вместе со слоевищами ламинарии. По результатам работы в Федеральную службу по интеллектуальной собственности подана заявка № 2023102951 от 10.02.2023 на выдачу патента на изобретение.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Подкорытова АВ, Рощина АН. Морские бурые водоросли — перспективный источник БАВ для медицинского, фармацевтического и пищевого применения. *Труды ВНИРО*. 2021;186(4):156–72. Podkorytova AV, Roshchina AN. Marine brown algae — perspective source of BAS for medical, pharmaceutical and food use. *Trudy VNIRO*. 2021;186(4):156–72 (In Russ.). <https://doi.org/10.36038/2307-3497-2021-186-156-172>
2. Семенова ЕВ, Билименко АС, Чеботок ВВ. Использование морских водорослей в медицине и фармации. *Современные проблемы науки и образования*. 2019;(5):118. Semenova EV, Bilimenko AS, Chebotok VV. The use of seaweed in medicine and pharmacy. *Modern Problems of Science and Education*. 2019;(5):118 (In Russ.). EDN: OZNHEB
3. Choudhary B, Chauhan OP, Mishra A. Edible seaweeds: a potential novel source of bioactive metabolites and nutraceuticals with human health benefits. *Front Mar Sci*. 2021;8:740054. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.740054>
4. Подкорытова АВ, Рощина АН, Бурова НВ. Водоросли-макрофиты прибрежных зон морей северного рыбохозяйственного бассейна: добыча, переработка, обоснование их комплексного использования. В кн.: *Инновационные направления интеграции науки, образования и производства*. Керчь; 2020. С. 271–6. Podkorytova AV, Roshchina AN, Burova NV. Algae-macrophytes of the coastal zones of the seas of the northern fishery basin: harvesting, processing, justification of their integrated use. In: *Innovative directions of integration of science, education and production*. Kerch; 2020. P. 271–6 (In Russ.).
5. Wells ML, Potin P, Craigie JS, Raven JA, Merchant SS, Helliwell KE, et al. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. *J Appl Phycol*. 2017;29(2):949–82. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0974-5>
6. Облучинская ЕД. Фитохимические и технологические исследования водорослей Баренцева моря. *Труды Кольского научного центра РАН*. 2020;11(4–7):178–98. Obluchinskaya ED. Phytochemicals and technological study of the Barents Sea algae. *Transactions of the Kola Science Centre*. 2020;11(4–7):178–98 (In Russ.). <https://doi.org/10.37614/2307-5252.2020.11.4.008>
7. Shokina Y, Kuchina Y, Savkina K, Novozhilova E, Tatcienko K, Shokin G. The use of brown algae



- Laminaria saccharina* in iodine enriched products aimed at preventing iodine deficiency. *KnE Life Sci.* 2022;2022:135–45.  
<https://doi.org/10.18502/kl.v7i1.10115>
8. Luvonga C, Rimmer CA, Yu LL, Lee SB. Organoarsenicals in seafood: occurrence, dietary exposure, toxicity, and risk assessment considerations — a review. *J Agric Food Chem.* 2020;68(4):943–60.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07532>
9. Molin M, Ulven SM, Meltzer HM, Alexander J. Arsenic in the human food chain, biotransformation and toxicology — review focusing on seafood arsenic. *J Trace Elem Med Biol.* 2015;31:249–59.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2015.01.010>
10. Zhao Y, Shang D, Ning J, Zhai Y. Arsenic and cadmium in the marine macroalgae (*Porphyra yezoensis* and *Laminaria japonica*) — forms and concentrations. *Chem Speciation Bioavailability.* 2012;24(3):197–203.  
<https://doi.org/10.3184/095422912X13404690516133>
11. Monagail MM, Morrison L. Arsenic speciation in a variety of seaweeds and associated food products. *Compr Anal Chem.* 2019;85:267–310.  
<https://doi.org/10.1016/bs.coac.2019.03.005>
12. Kim M, Kim J, Noh CH, Choi S, Joo YS, Lee KW. Monitoring arsenic species content in seaweeds produced off the southern coast of Korea and its risk assessment. *Environments.* 2020;7(9):68.  
<https://doi.org/10.3390/environments7090068>
13. Хотимченко СА, Бессонов ВВ, Багрянцева ОВ, Гмошинский ИВ. Безопасность пищевой продукции: новые проблемы и пути решений. *Медицина труда и экология человека.* 2015;(4):7–14.  
Khotimchenko SA, Bessonov VV, Bagryantseva OV, Gmoshinsky IV. Safety of food products: new problems and ways of solution. *Occupational Medicine and Human Ecology.* 2015;(4):7–14 (In Russ.).  
EDN: UWALFB
14. Багрянцева ОВ, Хотимченко СА. Токсичность неорганических и органических форм мышьяка. *Вопросы питания.* 2021;90(6):6–17.  
Bagryantseva OV, Khotimchenko SA. Risks associated with the consumption of inorganic and organic arsenic. *Problems of Nutrition.* 2021;90(6):6–17 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-6-6-17>
15. Абрамова ЛС, Гершунская ВВ, Козин АВ, Бондаренко ДА, Мурашев АН. Изучение токсичности мышьяксоодержащих соединений, выделенных из бурой водоросли *Saccharina japonica*, на лабораторных животных. *Труды ВНИРО.* 2020;181:223–34.  
Abramova LS, Gershunskaya VV, Kozin AV, Bondarenko DA, Murashev AN. Study of toxicity of arsenic-containing compounds isolated from the brown algae *Saccharina japonica* in laboratory animals. *Trudy VNIRO.* 2020;181:223–34 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.36038/2307-3497-2020-181-223-234>
16. Banerjee M, Kaur G, Whitlock BD, Carew MW, Le XC, Leslie EM. Multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1)-mediated cellular protection and transport of methylated arsenic metabolites differs between human cell lines. *Drug Metab Dispos.* 2018;46(8):1096–105.  
<https://doi.org/10.1124/dmd.117.079640>
17. Bartel M, Ebert F, Leffers L, Karst U, Schwerdtle T. Toxicological characterization of the inorganic and organic arsenic metabolite Thio-DMAV in cultured human lung cells. *J Toxicol.* 2011;2011:373141.  
<https://doi.org/10.1155/2011/373141>
18. Leong F, Hua X, Wang M, Chen T, Song Y, Tu P, et al. Quality standard of traditional Chinese medicines: comparison between European Pharmacopoeia and Chinese Pharmacopoeia and recent advances. *Chin Med.* 2020;15(1):1–20.  
<https://doi.org/10.1186/s13020-020-00357-3>
19. Wrobel K, Wrobel K. Methodological aspects of speciation analysis in food products. In: De la Guardia M, Garrigues S, eds. *Handbook of Mineral Elements in Food.* John Wiley & Sons; 2015. P. 391–453.  
<https://doi.org/10.1002/9781118654316.ch18>
20. Hussam A, Alauddin M, Khan AH, Rasul SB, Munir AKM. Evaluation of arsine generation in arsenic field kit. *Environ Sci Technol.* 1999;33(20):3686–88.  
<https://doi.org/10.1021/es9901462>
21. Llorente-Mirandes T, Rubio R, López-Sánchez JF. Inorganic arsenic determination in food: a review of analytical proposals and quality assessment over the last six years. *Appl Spectrosc.* 2017;71(1):25–69.  
<https://doi.org/10.1177/0003702816652374>
22. López-García I, Briceño M, Hernández-Córdoba M. Non-chromatographic screening procedure for arsenic speciation analysis in fish-based baby foods by using electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal Chim Acta.* 2011;699(1):11–17.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.05.005>
23. Raber G, Stock N, Hanel P, Murko M, Navratilova J, Francesconi KA. An improved HPLC–ICPMS method for determining inorganic arsenic in food: application to rice, wheat and tuna fish. *Food Chem.* 2012;134(1):524–32.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.113>
24. Cui S, Kim CK, Lee KS, Min HS, Lee JH. Study on the analytical method of arsenic species in marine samples by ion chromatography coupled with mass spectrometry. *Microchem J.* 2018;143:16–20.  
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.07.025>
25. Santos CMM, Nunes MAG, Barbosa IS. Evaluation of microwave and ultrasound extraction procedures for arsenic speciation in bivalve mollusks by liquid chromatography — inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Spectrochim Acta, Part B: At Spectrosc.* 2013;86:108–14.  
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2013.05.029>
26. Pétursdóttir ÁH, Gunnlaugsdóttir H, Krupp EM, Feldmann J. Inorganic arsenic in seafood: does the extraction method matter? *Food Chem.* 2014;150:353–9.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.005>
27. Rasmussen RR, Qian Y, Sloth JJ. SPE HG-AAS method for the determination of inorganic arsenic in rice — results from method validation studies and a survey on rice products. *Anal Bioanal Chem.* 2013;405(24):7851–7.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-013-6936-8>
28. Круглякова УС, Багрянцева ОВ, Евстратова АД, Малинкин АД, Гмошинский ИВ, Хотимченко СА. Раздельное количественное определение органических и неорганических форм мышьяка в морепродуктах. *Анализ риска здоровью.* 2018;(2):112–8.  
Kruglyakova US, Bagryantseva OV, Evstratova AD, Malinkin AD, Gmoshinskii IV, Khotimchenko SA. Separate quantitative determination of organic and non-organic arsenic in sea products. *Health Risk Analysis.* 2018;(2):112–8 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.2.13>
29. Rajaković LV, Todorović ŽN, Rajaković-Ognjanović VN, Onjia AE. Analytical methods for arsenic speciation

- analysis. *J Serb Chem Soc.* 2013;78(10):1461–79.  
<https://doi.org/10.2298/JSC130315064R>
30. Jinadasa KK, Peña-Vázquez E, Bermejo-Barrera P, Moreda-Piñeiro A. Ionic imprinted polymer solid-phase extraction for inorganic arsenic selective pre-concentration in fishery products before high-performance liquid chromatography – inductively coupled plasma-mass spectrometry speciation. *J Chromatogr A.* 2020;1619:460973.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.460973>
31. Staniszewski B, Freimann P. A solid phase extraction procedure for the simultaneous determination of total inorganic arsenic and trace metals in seawater: sample preparation for total-reflection X-ray fluorescence. *Spectrochim Acta, Part B: At Spectrosc.* 2008;63(11):1333–7.  
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2008.08.018>
32. Salgado SG, Nieto MAQ, Simon MMB. Determination of soluble toxic arsenic species in alga samples by microwave-assisted extraction and high performance liquid chromatography – hydride generation-inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. *J Chromatogr A.* 2006;1129(1):54–60.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.06.083>
33. Francesconi KA, Kuehnelt D. Determination of arsenic species: a critical review of methods and applications, 2000–2003. *Analyst.* 2004;129(5):373–95.  
<https://doi.org/10.1039/B401321M>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: В.М. Шукин — идея, концепция и дизайн исследования, анализ данных, изложенных в нормативных документах, поиск литературы; А.А. Ерина — проведение экспериментальных исследований методом масс-спектрометрии, сбор и систематизация данных; Ю.Н. Швецова — анализ, систематизация и обобщение экспериментальных данных; Е.С. Жигилей — подготовка образцов, проведение экспериментальных исследований методом твердофазной экстракции; Н.Е. Кузьмина — интерпретация результатов исследования, написание текста рукописи.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022400083-1).

**Конфликт интересов.** Н.Е. Кузьмина является членом редакционной коллегии журнала «Вестник НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств». Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Victor M. Shchukin elaborated the idea, concept, and design of the study, analysed the data presented in regulatory documents, and searched the literature. Alina A. Erina conducted mass spectrometry experiments, collected and collated data. Yulia N. Shvetsova analysed, systematised, and summarised experimental data. Evgeniya S. Zhigilei prepared samples and conducted solid-phase extraction experiments. Natalia E. Kuz'mina interpreted the study results and drafted the manuscript.

**Acknowledgements.** The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022400083-1).

**Conflict of interest.** Natalia E. Kuz'mina is a member of the Editorial Board of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. The other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Шукин Виктор Михайлович**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9440-0950>  
[Schukin@expmed.ru](mailto:Schukin@expmed.ru)  
**Ерина Алина Андреевна**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7488-7204>  
[erina@expmed.ru](mailto:erina@expmed.ru)  
**Швецова Юлия Николаевна**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2125-6174>  
[shvetsovajn@expmed.ru](mailto:shvetsovajn@expmed.ru)  
**Жигилей Евгения Сергеевна**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1637-9081>  
[lismanes@expmed.ru](mailto:lismanes@expmed.ru)  
**Кузьмина Наталия Евгеньевна**, д-р хим. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>  
[KuzminaN@expmed.ru](mailto:KuzminaN@expmed.ru)

Поступила 02.11.2022  
После доработки 22.02.2023  
Принята к публикации 07.03.2023  
Online first 26.04.2023

**Victor M. Shchukin**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9440-0950>  
[Schukin@expmed.ru](mailto:Schukin@expmed.ru)  
**Alina A. Erina**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7488-7204>  
[erina@expmed.ru](mailto:erina@expmed.ru)  
**Yulia N. Shvetsova**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2125-6174>  
[shvetsovajn@expmed.ru](mailto:shvetsovajn@expmed.ru)  
**Evgeniya S. Zhigilei**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1637-9081>  
[lismanes@expmed.ru](mailto:lismanes@expmed.ru)  
**Natalia E. Kuz'mina**, Dr. Sci. (Chem.)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>  
[KuzminaN@expmed.ru](mailto:KuzminaN@expmed.ru)

Received 2 November 2022  
Revised 22 February 2023  
Accepted 7 March 2023  
Online first 26 April 2023



Н.А. Ковалёва ✉   
О.В. Тринеева   
И.В. Чуви́кова   
А.И. Сливкин 

## Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной методом спектрофотометрии

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет»,  
Университетская пл., д. 1, г. Воронеж, 394018, Российская Федерация

✉ Ковалёва Наталья Александровна; [natali-sewer@yandex.ru](mailto:natali-sewer@yandex.ru)

### РЕЗЮМЕ

Плоды облепихи крушиновидной — фармакопейное сырье для получения облепихового масла. Другие части растения (кора, листья, побеги) являются объектами исследований с целью расширения сырьевой базы и рационального использования ограниченных природных ресурсов. Листья облепихи крушиновидной богаты различными биологически активными соединениями, одними из которых являются флавоноиды.

**Цель работы:** разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях облепихи с использованием спектрофотометрии в видимой области спектра.

**Материалы и методы:** объектом исследования являлись высушенные листья облепихи крушиновидной трех фенологических фаз (I — фаза завязывания плодов, II — фаза единичного созревания плодов, III — фаза массового созревания плодов), заготовленные в 2022 г. от дикорастущих растений в Воронежской области. Для количественного определения флавоноидов в листьях облепихи была использована методика, основанная на измерении оптической плотности раствора, содержащего продукты взаимодействия флавоноидов с алюминия хлоридом.

**Результаты:** максимум поглощения комплекса спиртового извлечения из листьев облепихи крушиновидной с алюминия хлоридом наблюдался при  $402 \pm 2$  нм, что соответствует максимуму поглощения лютеолина. Оптимальные параметры экстрагирования: экстрагент — спирт этиловый 70%; соотношение сырье : экстрагент — 1:150; степень измельчения — 0,5 мм; кратность экстракции — одна-кратная; время экстракции — 45 мин.

**Выводы:** разработана и валидирована методика количественного спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в листьях облепихи крушиновидной, которая может быть использована для стандартизации данного лекарственного растительного сырья (ЛРС). Установлено, что наибольшее содержание суммы флавоноидов (до 1,5%) характерно для сырья, заготовленного в фенологическую фазу I (середина июня). Содержание флавоноидов постепенно снижается к середине июля и концу августа. В связи с тем что облепиха крушиновидная является источником получения облепихового масла, а ранний сбор листьев может привести к снижению его ценности и несоответствию фармакопейным требованиям, предложено выбрать рекомендуемый срок заготовки листьев, совпадающий со сбором плодов, так как листья на данном этапе роста и развития еще содержат достаточное количество флавоноидов (до 0,8%) и могут быть использованы как самостоятельное ЛРС.

**Ключевые слова:** флавоноиды; листья облепихи крушиновидной; фенологические фазы; валидация

**Для цитирования:** Ковалёва Н.А., Тринеева О.В., Чуви́кова И.В., Сливкин А.И. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной методом спектрофотометрии. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(2):216–226. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-531>

N.A. Kovaleva ✉   
O.V. Trineeva   
I.V. Chuvikova   
A.I. Slivkin 

## Development and Validation of a Procedure for Quantitative Determination of Flavonoids in Sea Buckthorn Leaves by Spectrophotometry

Voronezh State University,  
1 Universitetskaya Sq., Voronezh 394018, Russian Federation

✉ **Natalia A. Kovaleva**; [natali-sewer@yandex.ru](mailto:natali-sewer@yandex.ru)

### ABSTRACT

Sea buckthorn fruits are a pharmacopoeial raw material used to produce sea buckthorn oil. Other parts of the plant (bark, leaves, and shoots) are objects of research aiming to expand the raw material base and use limited natural resources rationally. Sea buckthorn leaves are rich in biologically active compounds, including flavonoids. **The aim of the study** was to develop and validate an analytical procedure for the quantification of flavonoids in sea buckthorn leaves using spectrophotometry in the visible spectral region.

**Materials and methods.** The study focused on dried leaves of sea buckthorn harvested in the Voronezh region in 2022. These leaves were collected from wild plants at three phenological stages: fruit setting (I), single fruit ripening (II), and mass fruit ripening (III). To quantify flavonoids in sea buckthorn leaves, the authors used an analytical procedure based on measuring the absorbance of a solution containing products of the reaction between flavonoids and aluminium chloride.

**Results.** The absorption maximum of the complex between the alcohol extract of sea buckthorn leaves and aluminium chloride was observed at  $402 \pm 2$  nm; the wavelength corresponds to the absorption maximum of luteolin. The optimal extraction conditions included 70% ethanol as the extraction solvent, a raw material to solvent ratio of 1:150, a particle size of 0.5 mm, and a single extraction cycle of 45 min.

**Conclusions.** The authors developed and validated a spectrophotometric procedure for the quantification of total flavonoids, expressed as luteolin, in sea buckthorn leaves. The procedure can be used to standardise this herbal drug. As observed in the study, the total flavonoid content was the highest (up to 1.5%) in the raw material at phenological stage I (collected in mid-June) and gradually decreased through mid-July to the end of August. Since sea buckthorn is the source of sea buckthorn oil and the early collection of leaves may decrease its value or lead to non-compliance with pharmacopoeial requirements, the recommended time for harvesting leaves should coincide with that for harvesting fruits. Collected at this stage of growth and development, sea buckthorn leaves still contain sufficient flavonoids (up to 0.8%) and can be used as an individual herbal drug.

**Key words:** flavonoids; sea buckthorn leaves; phenological stages; validation

**For citation:** Kovaleva N.A., Trineeva O.V., Chuvikova I.V., Slivkin A.I. Development and validation of a procedure for quantitative determination of flavonoids in sea buckthorn leaves by spectrophotometry. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):216–226. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-531>

### Введение

Облепиха крушиновидная (*Hippophaë rhamnoides* L.) — многолетний ветроопыляемый двудомный ягодный кустарник. Плоды облепихи являются фармакопейным сырьем и служат источником для получения субстанции растительного происхождения — облепихового масла [1]. Другие части растения (листья, почки, побеги, кора) активно изучаются как российскими, так и зарубежными исследователями, но в медицине используются ограниченно. Благодаря богатому

химическому составу биологически активных веществ (БАВ), среди которых флавоноиды, дубильные вещества, витамины, органические, полиненасыщенные жирные кислоты и аминокислоты, листья облепихи являются перспективным сырьем для изучения [2–4]. Облепихи крушиновидной листьев экстракт<sup>1</sup> зарегистрирован в Российской Федерации как лекарственный растительный препарат (ЛРП) противовирусного действия, представляющий собой очищенную фракцию полифенолов — мономерных

<sup>1</sup> <https://grls.rosminzdrav.ru>



гидролизующих галлоэллаготанинов. Кроме того, в настоящее время ведутся доклинические исследования по выявлению и других видов фармакологической активности экстракта листьев облепихи [5].

По данным Э.Н. Новрузова и соавт. [6], ежегодный запас листьев облепихи только на Большом Кавказе составляет 3–5 т. Результаты ресурсо-ведческой оценки сырьевых запасов листьев на территории Российской Федерации (в культуре и дикорастущем виде) пока в литературе не обсуждены. При этом листья являются побочным продуктом при заготовке основного сырья — плодов.

Согласно данным литературы, листья облепихи крушиновидной содержат различные флавоноиды, извлекаемые в основном спирто-водными смесями. Так, в составе комплекса флавоноидов идентифицированы производные кверцетина, изорамнетина и кемпферола (рутин, кверцетин, мирицетин, лютеолин, витексин, нарциссин и др.) [4, 7–9]. Так как флавоноиды оказывают антиоксидантный эффект, ряд исследований направлен на изучение выраженности этой активности, а также на выбор способа получения извлечений с высоким содержанием флавоноидов (экстракты сухие, спиртовое и водное извлечение) [10–12]. Однако единой валидированной методики определения флавоноидов в данном лекарственном растительном сырье (ЛРС) в настоящее время не существует. При этом целевыми группами БАВ в концепции сквозной стандартизации в цепочке ЛРС — ЛРП следует считать фракцию полифенолов — флавоноидов и дубильных веществ в фармацевтической субстанции растительного происхождения (облепихи крушиновидной листьев экстракт стандартизуется по группе дубильных веществ).

Цель работы — разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной методом спектрофотометрии в видимой области спектра.

## Материалы и методы

Объект исследования — собранные на территории Воронежской области в 2022 г. и высушенные

воздушно-теньевым способом до остаточной влажности не более 10% облепихи крушиновидной листья трех фенологических фаз [13] жизни растения (I — фаза завязывания плодов, II — фаза единичного созревания плодов, III — фаза массового созревания плодов).

Для разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях был адаптирован способ, описанный в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ) для ряда ЛРС и основанный на измерении оптической плотности продуктов реакции спиртового (70%) извлечения с алюминия хлоридом. В работе использовали алюминия хлорид 6-водный (99%, АО «БЕКТОН»).

Флавоноиды извлекали из изучаемого ЛРС водно-спиртовыми растворами различных концентраций. К 2,0 мл спиртового извлечения прибавляли 5 мл спиртового раствора алюминия хлорида 5% (в спирте этиловом 70%) и перемешивали. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре СФ-2000 (ЗАО «ОКБ Спектр»). Расчет суммы проводили в пересчете на лютеолин по величине удельного показателя поглощения данного флавоноида в комплексе с алюминия хлоридом, указанной в ГФ РФ и равной 549,41<sup>2</sup>. Выбор аналитической длины волны обоснован максимумом поглощения на дифференциальном спектре анализируемого извлечения с комплексообразователем при 400±2 нм, что характерно для продукта реакции лютеолина с алюминия хлоридом<sup>3</sup> [14–17]. Валидация методики проведена в соответствии с требованиями ГФ РФ<sup>4</sup>.

Согласно данным литературы по компонентному составу флавоноидов [4, 8, 9], в образцах листьев облепихи обнаруживается лютеолин. Кроме того, методом тонкослойной хроматографии в анализируемых извлечениях образцов всех фаз заготовки были идентифицированы рутин, гиперозид, кверцетин, лютеолина 7-глюкозид по характерным значениям величин  $R_f$ , а также флуоресценции зон адсорбции в ультрафиолетовой зоне спектра после обработки алюминия хлорида спиртовым раствором 5% [18].

Статистическая обработка данных проведена в соответствии с рекомендациями ГФ РФ<sup>5</sup>

<sup>2</sup> ФС.2.5.0012.15 Душицы обыкновенной трава, ФС.2.5.0029.15 Мята перечная листья, ФС.2.5.0101.18 Тысячелистника обыкновенного трава. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М.; 2018.

<sup>3</sup> ФС.2.5.0101.18 Тысячелистника обыкновенного трава. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М.; 2018.

<sup>4</sup> ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

<sup>5</sup> ОФС.1.1.0013.15 Статистическая обработка результатов химического эксперимента. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.



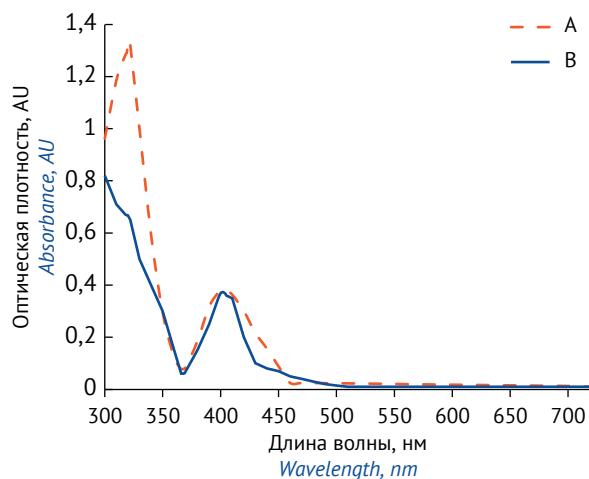
при использовании программного обеспечения Microsoft Office Excel.

### Результаты и обсуждение

Спектр поглощения спиртового извлечения из листьев облепихи с алюминия хлоридом имел характерные четко выраженные максимумы при длинах волн  $320 \pm 2$  и  $400 \pm 2$  нм, что позволяет рекомендовать лутеолин в качестве стандартного образца (СО) в расчетах содержания суммы флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной и использовать эту длину волны в качестве аналитической. Дифференциальный спектр поглощения извлечения комплекса флавоноидов листьев облепихи крушиновидной с алюминия хлоридом представлен на рисунке 1.

Большинство ЛРС, содержащего флавоноиды, стандартизируют в пересчете на рутин<sup>6</sup>. Так как максимум поглощения рутина соответствует длине волны  $410 \pm 2$  нм, стандартизировать листья облепихи с использованием этого СО целесообразно.

На первом этапе разработки методики провели выбор экстрагента, который позволяет получить максимальный выход флавоноидов из сырья. Согласно данным литературы [7], флавоноиды листьев облепихи не извлекаются органическими слабополярными экстрагентами, такими как петролейный эфир, хлороформ и этилацетат.



**Рис. 1.** Спектр поглощения извлечения комплекса флавоноидов из листьев облепихи с алюминия хлоридом (А – собственные данные) и спектр поглощения комплекса стандартного образца лутеолина с алюминия хлоридом (В – [16])

**Fig. 1.** Absorption spectra of the extract of the complex formed between sea buckthorn leaf flavonoids and aluminium chloride (A, experimental data) and the complex formed between luteolin and aluminium chloride (B, data from [16])

Установлено, что положение максимума поглощения в зависимости от полярности экстрагента менялось незначительно, а наибольшее значение оптической плотности извлечения наблюдалось при использовании спирта этилового в концентрации 70%, что соответствует максимальному выходу флавоноидов (табл. 1).

Для установления полноты экстракции флавоноидов из листьев облепихи крушиновидной изучали влияние на состав извлечения соотношения сырье : экстрагент (табл. 2), кратности экстракции (рис. 2), степени измельчения сырья (табл. 3), а также времени экстракции (рис. 3). Установлено, что с увеличением объема экстрагента наблюдалось возрастание выхода флавоноидов и при соотношении 1:150 выход был максимальным (1,431%). Однако при дальнейшем увеличении объема экстрагента содержание флавоноидов снижалось. Это, вероятно, объясняется полным выходом флавоноидов из листьев облепихи и насыщением раствора.

При выборе степени измельчения были использованы фракции ЛРС с размером частиц 0,2–3,0 мм. Согласно полученным результатам, при уменьшении степени измельчения выход флавоноидов из сырья увеличивался и достигал максимума при извлечении из фракции 0,5–0,2 мм. При экстракции сырья с размером частиц менее 0,2 мм отмечено снижение выхода флавоноидов, что, возможно, связано с плохой смачиваемостью и комкованием сырья.

При исследовании влияния кратности экстракции на выход флавоноидов из листьев облепихи в извлечение установлено, что увеличение кратности не приводит к повышению выхода изучаемых БАВ из сырья. При двукратной экстракции выход флавоноидов оставался на одном уровне (1,499% в пересчете на содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом ЛРС), а при трехкратной – снижался (1,36% в объединенном экстракте с последующим пересчетом на содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом ЛРС).

При выборе оптимального времени экстракции были проанализированы пробы, собранные спустя 15, 30, 45, 60, 90 и 120 мин нагревания. Установлено, что с увеличением длительности экстракции выход флавоноидов возрастал, достигая максимума при нагревании в течение 45 мин, и далее снижался, выходя на плато при нагревании более 60 мин (рис. 2).

При проведении анализа извлечения для определения оптимального времени измерения,

<sup>6</sup> Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М.; 2018.

**Таблица 1.** Влияние состава экстрагента на выход флавоноидов из листьев облепихи (n=3)**Table 1.** Effects of the extraction solvent composition on the yield of sea buckthorn leaf flavonoids (n=3)

| Экстрагент<br><i>Extraction solvent</i>                       | Полярность экстрагента<br>по Снайдеру [19]<br><i>Snyder polarity index [19]</i> | Максимум поглощения, нм<br><i>Absorption maximum, nm</i> | Выход флавоноидов, %<br><i>Flavonoid yield, %</i> |
|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Вода<br><i>Water</i>                                          | 10,2                                                                            | 401                                                      | 1,174±0,027                                       |
| Спирт этиловый 40%<br><i>Ethyl alcohol, 40%</i>               | 8,16                                                                            | 401                                                      | 1,273±0,029                                       |
| <b>Спирт этиловый 70%</b><br><b><i>Ethyl alcohol, 70%</i></b> | <b>6,84</b>                                                                     | <b>403</b>                                               | <b>1,331±0,031</b>                                |
| Спирт этиловый 96%<br><i>Ethyl alcohol, 96%</i>               | 5,4                                                                             | 404                                                      | 0,968±0,022                                       |

**Примечание.** n – число параллельных проб. Жирным шрифтом выделен наилучший результат.

**Note.** n is the number of parallel samples. The best result is highlighted in bold.

**Таблица 2.** Влияние соотношения сырье : экстрагент на извлечение флавоноидов из листьев облепихи (n=3)**Table 2.** Effects of the raw material to extraction solvent ratio on the extraction of flavonoids from sea buckthorn leaves (n=3)

| Соотношение сырье :<br>экстрагент<br><i>Raw material to<br/>extraction:solvent ratio</i> | Содержание суммы<br>флавоноидов, %<br><i>Total flavonoid content, %</i> |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| 1:25                                                                                     | 1,043±0,024                                                             |
| 1:50                                                                                     | 1,295±0,030                                                             |
| 1:100                                                                                    | 1,331±0,031                                                             |
| <b>1:150</b>                                                                             | <b>1,431±0,033</b>                                                      |
| 1:200                                                                                    | 1,355±0,031                                                             |
| 1:250                                                                                    | 1,295±0,030                                                             |

**Примечание.** n – число параллельных проб. Жирным шрифтом выделен наилучший результат.

**Note.** n is the number of parallel samples. The best result is highlighted in bold.

необходимого для образования стабильного комплекса флавоноидов с алюминия хлоридом, оценивали динамику изменения оптической плотности раствора во времени (рис. 3). Рекомендуемое время измерения, согласно экспериментальным данным, составило 30–40 мин.

Точную навеску высушенного сырья, прошедшего сквозь сито с диаметром отверстий 0,5 мм, массой около 1,0 г, помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 150 мл спирта этилового 70% и взвешивали с погрешностью ±0,01 г. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане в течение 45 мин при периодическом встряхивании. После нагревания колбу с содержимым охлаждали до комнатной температуры, взвешивали и при необходимости доводили

**Таблица 3.** Влияние степени измельчения листьев на выход флавоноидов в извлечение (n=3)**Table 3.** Effects of the particle size on the extraction yield of flavonoids (n=3)

| Фракции измельченного<br>сырья, мм<br><i>Fractions of crushed raw<br/>material, mm</i> | Содержание суммы<br>флавоноидов, %<br><i>Total flavonoid content, %</i> |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| 3,0–2,0                                                                                | 1,130±0,026                                                             |
| 2,0–1,0                                                                                | 1,331±0,031                                                             |
| 1,0–0,5                                                                                | 1,392±0,032                                                             |
| <b>0,5–0,2</b>                                                                         | <b>1,523±0,035</b>                                                      |
| Менее 0,2                                                                              | 1,421±0,033                                                             |

**Примечание.** n – число параллельных проб. Жирным шрифтом выделен наилучший результат.

**Note.** n is the number of parallel samples. The best result is highlighted in bold.

до первоначальной массы тем же растворителем (спирт этиловый 70%). Объем извлечения фиксировали равным 150 мл. Извлечение фильтровали через 6 слоев марли, отжимая остатки сырья (раствор А).

2,0 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 5 мл алюминия хлорида спиртового раствора 5% (в спирте этиловом 70%) и через 10 мин 1 мл уксусной кислоты раствора 3%, перемешивали, доводили объем раствора спиртом этиловым 70% до метки и оставляли на 30 мин при дневном освещении (раствор Б).

К 2,0 мл раствора А в мерной колбе вместимостью 25 мл прибавляли 1 мл уксусной кислоты раствора 3%, доводили спиртом этиловым 70%

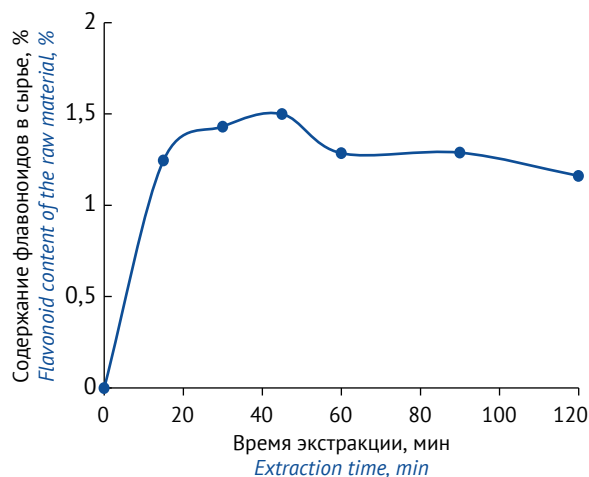


Рис. 2. Влияние времени экстракции на содержание флавоноидов в экстракте

Fig. 2. Effects of the extraction time on the flavonoid content in the extract

до метки и перемешивали (Раствор сравнения. Готовили параллельно с раствором Б).

Через 30 мин измеряли оптическую плотность испытуемого раствора Б на спектрофотометре при длине волны  $400 \pm 2$  нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Содержание суммы флавоноидов ( $X$ , %) в пересчете на лютеолин и абсолютно сухое сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \times 100 \times 100 \times V_{\text{изв}} \times V_{\text{к}}}{E_{1\text{см}}^{1\%} \times 100 \times a \times (100 - W) \times l \times V_{\text{а}}}, \quad (1)$$

где  $A$  — оптическая плотность испытуемого раствора Б;  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  — удельный показатель поглощения лютеолина в комплексе с алюминия хлоридом, равный 549,41<sup>7</sup>;  $V_{\text{изв}}$  — объем извлечения, мл;  $V_{\text{к}}$  — объем мерной колбы, мл;

Таблица 4. Метрологические характеристики методики определения суммы флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной ( $P=95\%$ ;  $n=7$ )

Table 4. Metrological characteristics of the analytical procedure for determining the total flavonoid content in sea buckthorn leaves ( $P=95\%$ ;  $n=7$ )

| $x_{\text{ср}}$ | $S^2$    | $S$   | $Sx_{\text{ср}}$ | $\Delta x$ | $\Delta x_{\text{ср}}$ | $\epsilon$ , % | $\epsilon_{\text{ср}}$ , % |
|-----------------|----------|-------|------------------|------------|------------------------|----------------|----------------------------|
| 1,394           | 0,000528 | 0,023 | 0,0609           | 0,0564     | 0,149                  | 4,046          | 1,528                      |

**Примечание.**  $P$  — доверительная вероятность;  $n$  — число параллельных проб;  $x_{\text{ср}}$  — среднее значение результата анализа;  $S^2$  — дисперсия;  $S$  — стандартное отклонение;  $Sx_{\text{ср}}$  — стандартное отклонение среднего результата;  $\Delta x$  — полуширина доверительного интервала отдельного результата анализа;  $\Delta x_{\text{ср}}$  — полуширина доверительного интервала среднего результата;  $\epsilon$  — относительная ошибка отдельного результата анализа;  $\epsilon_{\text{ср}}$  — относительная ошибка среднего результата.

**Note.**  $P$ , confidence level;  $n$ , number of parallel samples;  $x_{\text{ср}}$ , mean of test results;  $S^2$ , variance;  $S$ , standard deviation;  $Sx_{\text{ср}}$ , standard deviation of the mean of test results;  $\Delta x$ , half-width of the confidence interval for an individual test result;  $\Delta x_{\text{ср}}$ , half-width of the confidence interval for the mean of test results;  $\epsilon$ , relative error of an individual test result;  $\epsilon_{\text{ср}}$ , relative error of the mean of test results.

<sup>7</sup> ФС.2.5.0101.18 Тысячелистника обыкновенного трава. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М.; 2018.



Рис. 3. Динамика изменения оптической плотности извлечения из листьев облепихи во времени

Fig. 3. Changes in the absorbance of the sea buckthorn leaf extract as a function of time

$a$  — навеска сырья, г;  $W$  — влажность сырья, %;  $V_{\text{а}}$  — объем аликвоты, взятый для разведения, мл;  $l$  — толщина слоя в кювете, см.

Проведена метрологическая оценка предложенной методики. В результате установлено, что относительная ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет около 4,046%, т.е. находится в пределах случайной ошибки методики и не превышает 5% (табл. 4).

На заключительном этапе разработки методики проведена ее валидация. Так как данная процедура является обязательной для рекомендации методики к включению в нормативную документацию, были установлены предел обнаружения, предел количественного определения, линейность, аналитическая область методики, специфичность, прецизионность на уровне сходимости (внутрилабораторной и межлабораторной).

**Таблица 5.** Схема приготовления растворов для определения линейности методики

**Table 5.** Scheme for preparation of linearity solutions

| Уровень разведения<br><i>Dilution level</i> | Аликвота раствора А, мл<br><i>Aliquot of solution A, mL</i> | Объем раствора Б, мл<br><i>Volume of solution B, mL</i> | Доля от стандартной<br>аликвоты по методике, %<br><i>Percentage of the standard<br/>aliquot for the procedure, %</i> |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1                                           | 0,1                                                         | 25                                                      | 5                                                                                                                    |
| 2                                           | 0,25                                                        |                                                         | 12,5                                                                                                                 |
| 3                                           | 0,5                                                         |                                                         | 25,0                                                                                                                 |
| 4                                           | 1,0                                                         |                                                         | 50,0                                                                                                                 |
| 5                                           | 1,5                                                         |                                                         | 75,0                                                                                                                 |
| 6                                           | 2,0                                                         |                                                         | 100,0                                                                                                                |
| 7                                           | 2,5                                                         |                                                         | 125,0                                                                                                                |
| 8                                           | 3,0                                                         |                                                         | 150,0                                                                                                                |
| 9                                           | 3,5                                                         |                                                         | 175,0                                                                                                                |

Специфичность методики оценивали путем сравнения спектров поглощения комплексов СО лутеолина [16] и исследуемого извлечения с алюминия хлоридом (рис. 1).

Линейность определяли на девяти уровнях концентраций (рис. 4). Растворы готовили путем увеличения аликвоты по следующей схеме (табл. 5).

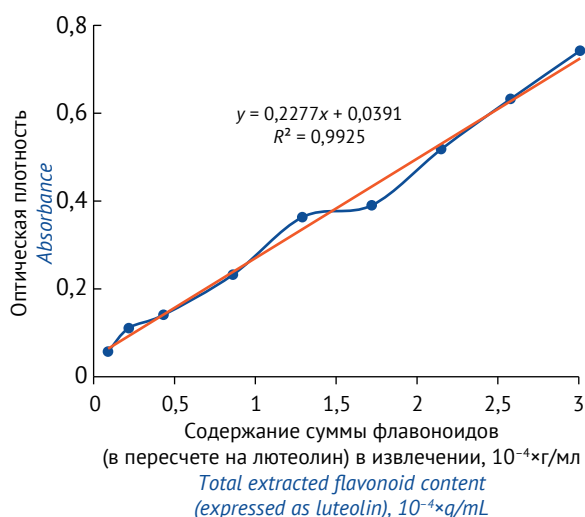
Характеристики линейности методики приведены в таблице 6 и на рисунке 4.

Прецизионность методики на уровне сходимости (внутрилабораторной) определяли в условиях, при которых семь независимых результатов

измерений ( $n$ ) получали одним и тем же методом, в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования, в пределах короткого промежутка времени. Межлабораторную сходимость определяли в аналогичных условиях и тем же методом, но в другой лаборатории и другим исследователем (табл. 6). Результаты, полученные при статистической обработке, достоверны при доверительной вероятности 95% и свидетельствуют о прецизионности методики в условиях повторяемости (табл. 6).

Для исследования динамики накопления флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной проводили также количественное определение данных БАВ в листьях, заготовленных в различные фенологические фазы. Установлено, что наибольшее количество флавоноидов  $1,431 \pm 0,033\%$  содержится в листьях, заготовленных в середине июня (фенофаза I), затем оно резко снижается к середине июля до  $0,941 \pm 0,022\%$  (фенофаза II) и продолжает постепенно уменьшаться к концу августа —  $0,803 \pm 0,018\%$  (фенофаза III). Это связано с тем, что флавоноиды в процессе развития растения подвергаются химическим превращениям (окисление, гидролиз), что приводит к снижению их концентрации к окончанию вегетации.

Для оценки достоверности полученных результатов и влияния условий произрастания растения на накопление флавоноидов в листьях облепихи было проведено сравнение собственных экспериментальных данных с данными других исследователей, заготавливавших листья облепихи на других территориях (табл. 7).



**Рис. 4.** Зависимость оптической плотности раствора от содержания суммы флавоноидов в пересчете на лутеолин в извлечении из листьев облепихи крушиновидной

**Fig. 4.** Absorbance of the test solution as a function of the total flavonoid content, expressed as luteolin, in the sea buckthorn leaf extract

**Таблица 6.** Валидационные характеристики методики спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в пересчете на лутеолин в листьях облепихи крушиновидной**Table 6.** Validation characteristics of the spectrophotometric procedure for the quantification of total flavonoids, expressed as luteolin, in sea buckthorn leaves

| Валидационный показатель<br><i>Validation parameter</i>                          | Характеристика<br><i>Characteristics</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Результаты<br><i>Results</i>                                                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Линейность<br><i>Linearity</i>                                                   | Уравнение прямой<br><i>Linear equation</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | $y=0,2277x+0,0391$                                                                                                                       |
|                                                                                  | Наклон (a)<br><i>Slope (a)</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0,2277                                                                                                                                   |
|                                                                                  | Отрезок на оси ординат (b)<br><i>Intercept (b)</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 0,0391                                                                                                                                   |
|                                                                                  | Коэффициент корреляции<br><i>Correlation coefficient</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 0,9925                                                                                                                                   |
|                                                                                  | Диапазон линейности (по содержанию флавоноидов в извлечении, г/мл)<br><i>Linearity range (extracted flavonoids, g/mL)</i>                                                                                                                                                                                                                                                               | $0,086-3,01 \times 10^{-4}$                                                                                                              |
| Аналитическая область методики, г/мл<br><i>Range, g/mL</i>                       | 80–120% от номинального значения определяемой величины<br><i>80–120% of the nominal value of the measurand</i>                                                                                                                                                                                                                                                                          | $1,128-1,778 \times 10^{-4}$                                                                                                             |
| Предел обнаружения, г/мл<br><i>Limit of detection, g/mL</i>                      | Содержание флавоноидов в 1 мл извлечения<br><i>Flavonoid content per 1 mL of extract</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                | $8,6 \times 10^{-6}$                                                                                                                     |
| Предел количественного определения, г/мл<br><i>Limit of quantification, g/mL</i> | Содержание флавоноидов, которое может быть определено в 1 мл извлечения количественно<br><i>Quantifiable flavonoid content per 1 mL of extract</i>                                                                                                                                                                                                                                      | $2,38 \times 10^{-5}$                                                                                                                    |
| Повторяемость (внутрилабораторная)<br><i>Repeatability (intralaboratory)</i>     | Содержание флавоноидов (n=7), % (лаборатория 1, исследователь 1)<br><i>Flavonoid content (n=7), % (Laboratory 1, Operator 1)</i>                                                                                                                                                                                                                                                        | 1,404 / 1,382 / 1,415 / 1,390 / 1,377 / 1,361 / 1,427                                                                                    |
|                                                                                  | Среднее значение 1, %<br><i>Mean value 1, %</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 1,394                                                                                                                                    |
|                                                                                  | Доверительный интервал 1 (при P=95%), %<br><i>Confidence interval 1 (P=95%), %</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | $1,394 \pm 0,0564$                                                                                                                       |
|                                                                                  | Стандартное отклонение 1, %<br><i>Standard deviation 1, %</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 2,3                                                                                                                                      |
|                                                                                  | Коэффициент вариации 1, %<br><i>Coefficient of variation 1, %</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 1,65                                                                                                                                     |
| Повторяемость (межлабораторная)<br><i>Repeatability (interlaboratory)</i>        | Содержание флавоноидов (n=7), % (лаборатория 2, исследователь 2)<br><i>Flavonoid content (n=7), % (Laboratory 2, Operator 2)</i>                                                                                                                                                                                                                                                        | 1,409 / 1,405 / 1,409 / 1,399 / 1,386 / 1,433 / 1,416                                                                                    |
|                                                                                  | Среднее значение 2, %<br><i>Mean value 2, %</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 1,408                                                                                                                                    |
|                                                                                  | Доверительный интервал 2 (при P=95%), %<br><i>Confidence interval (P=95%), %</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | $1,408 \pm 0,0355$                                                                                                                       |
|                                                                                  | Стандартное отклонение 2, %<br><i>Standard deviation 2, %</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1,45                                                                                                                                     |
|                                                                                  | Коэффициент вариации 2, %<br><i>Coefficient of variation 2, %</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 1,03                                                                                                                                     |
|                                                                                  | Полученное значение критерия Фишера, вычисленное по результатам проведения испытаний разными исполнителями на разном оборудовании, должно быть меньше табличного значения<br><i>The F-test value calculated from the results obtained by different operators with different equipment is lower than the critical value</i><br>$F_{\text{практик}} = s_1^2 / s_2^2 \leq F_{\text{теор}}$ | $F_{\text{практик}} = s_1^2 / s_2^2 = 0,00371 / 0,00147 = 2,52$<br>$F_{\text{теор}} = 4,28$<br>$F_{\text{практик}} \leq F_{\text{теор}}$ |



Продолжение таблицы 6

Table 6 (continued)

| Валидационный показатель<br><i>Validation parameter</i> | Характеристика<br><i>Characteristics</i>                                                                                                                                                                            | Результаты<br><i>Results</i>                                                       |
|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Правильность<br><i>Trueness</i>                         | Свободный член уравнения меньше своего доверительного интервала<br><i>The y-intercept of the linear equation is lower than its confidence interval</i><br>$\Delta b = t(0,05, n-1) \times s_b$<br>$b \leq \Delta b$ | $\Delta b = 2,37 \times 0,4192 = 0,9935$<br>$b \leq \Delta b$<br>$0,0391 < 0,9935$ |

**Примечание.**  $n$  — число проб;  $P$  — доверительная вероятность;  $t(0,05; n-1)$  — коэффициент Стьюдента, где 0,05 — уровень значимости;  $F_{\text{факт}}$ ,  $F_{\text{теор}}$  — полученный и табличный критерии Фишера соответственно;  $s^2$  — дисперсия;  $s$  — стандартное отклонение;  $b$  — свободный член уравнения;  $s_b$  — стандартное отклонение свободного члена.

**Note.**  $n$ , number of samples;  $P$ , confidence level;  $t$ , Student's t-test (significance level=0.05;  $n=1$ );  $F_{\text{факт}}$  and  $F_{\text{теор}}$  calculated and critical Fisher's test values, respectively;  $s^2$ , variance;  $s$ , standard deviation;  $b$ , y-intercept;  $s_b$ , standard deviation of the y-intercept.

**Таблица 7.** Данные литературы по содержанию флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной различных регионов произрастания

Table 7. Literature data on the flavonoid content of sea buckthorn leaves per vegetation region

| Район заготовки<br><i>Harvesting area</i>                                                                                                    | Содержание суммы, %<br><i>Total content, %</i> | Компонентный состав флавоноидов<br><i>Flavonoid components</i>                                                                                                                                 | Метод определения<br><i>Quantification method</i> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Польша (г. Липник) [4]<br><i>Poland (Lipnik)</i>                                                                                             | 0,254                                          | —                                                                                                                                                                                              | ВЭЖХ<br><i>HPLC</i>                               |
| Азербайджан (высокогорье Шекинского и Исмаиллинского районов) <sup>8</sup><br><i>Azerbaijan (highlands of Sheki and Ismayilli districts)</i> | 2,5–3,2                                        | Кверцетин, нарциссин, рутин, гликозиды изорамнетина<br><i>Quercetin, narcissin, rutin, and isorhamnetin glycosides</i>                                                                         | СФ<br><i>Spectrophotometry</i>                    |
| Румыния [8]<br><i>Romania</i>                                                                                                                | 0,826                                          | Рутин, лютеолин, кверцитрин, кверцетин и его гликозиды, мирицетин, витексин, кемпферол<br><i>Rutin, luteolin, quercitrin, quercetin and its glycosides, myricetin, vitexin, and kaempferol</i> | ВЭЖХ<br><i>HPLC</i>                               |
| Польша (г. Сокулка) [9]<br><i>Poland (Sokolka)</i>                                                                                           | 1,305                                          | Гликозиды кверцетина, изорамнетина и кемпферола<br><i>Quercetin glycosides, isorhamnetin, and kaempferol</i>                                                                                   | ВЭЖХ<br><i>HPLC</i>                               |

**Примечание.** «—» — нет данных.

**Note.** —, no data.

Полученные результаты коррелируют с данными литературы о содержании суммы флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной.

В результате проведенных исследований в качестве критерия качества сырья по показателю «Количественное определение» можно предложить регламентировать содержание суммы флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной в пересчете на лютеолин на уровне не менее 0,5%. Дальнейшие исследования по оценке стабильности флавоноидов в сырье при хранении в течение рекомендуемого срока годности (2 года) будут продолжены.

## Заключение

Разработана и валидирована методика количественного спектрофотометрического опре-

деления суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в листьях облепихи крушиновидной, которая может быть использована для стандартизации данного ЛРС. Проведенный анализ показал, что листья облепихи в зависимости от фенологической фазы содержат 0,8–1,5% флавоноидов и являются перспективным источником флавоноидсодержащего сырья для получения ЛРП и пищевых добавок. Установлено, что наибольшее содержание суммы флавоноидов характерно для фенологической фазы I (сырье заготовлено в середине июня). Постепенное снижение содержания флавоноидов наблюдается в фенологических фазах II (середина июля) и III (конец августа).

В связи с тем что облепиха крушиновидная является источником получения уникального ЛРП — облепихового масла, а ранний сбор

<sup>8</sup> Багиров ИМ. Фармакогностическое изучение растений семейства лоховые: автореф. дисс. ... канд. фарм. наук. М.; 2010.

листьев может привести к снижению его качества согласно фармакопейным требованиям, считаем, что рекомендуемый срок заготовки листьев должен совпадать со сбором плодов,

так как листья на данном этапе роста и развития еще содержат достаточное количество флавоноидов (до 0,8%) и могут быть использованы как самостоятельное ЛРС для получения ЛРП.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Михеев АМ, Деменко ВИ. Облепиха. М.: Росагропромиздат; 1990.  
Mikheev AM, Demenko VI. *Sea buckthorn*. Moscow: Rosagropromizdat; 1990 (In Russ.).
2. Хасенова АБ, Аралбаева АН, Утегалиева РС, Маматаева АТ, Мурзахметова МК. Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides* L.) – источник биоактивных веществ. *Вестник Алматинского технологического университета*. 2020;(1):82–8.  
Khassenova AB, Aralbaeva AN, Utegalyieva RS, Mamataeva AT, Murzakhmetova MK. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) is a source of bioactive substances. *The Journal of the Almaty Technological University*. 2020;(1):82–8 (In Russ.).  
EDN: [ITGNOG](#)
3. Абдыкаликова КА, Нечипоренко ЛП. Фитохимический состав надземной части облепихи крушиновидной. *Естественные науки*. 2008;(4):104–7.  
Abdykalikova KA, Nechiporenko LP. Phytochemical composition of the aboveground part of sea buckthorn. *Natural Sciences*. 2008;(4):104–7 (In Russ.).  
EDN: [ZELKAO](#)
4. Jaroszewska A, Biel W. Chemical composition and antioxidant activity of leaves of mycorrhized sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Chil J Agric Res*. 2017;77(2):155–62.  
<https://doi.org/10.4067/S0718-58392017000200155>
5. Suryakumar G, Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *J Ethnopharmacol*. 2011;138(2):268–78.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.024>
6. Новрузов ЭН, Мамедов ЗГ, Мустафаева ЛА, Мирюсифова ХМ, Зейналова АМ. Состав и содержание флавоноидов листьев *Hippophae rhamnoides* L., произрастающих в Азербайджане. *Химия растительного сырья*. 2018;(3):209–14.  
Novruzov EN, Mamedov ZG, Mustafaeva LA, Miryusifova KhM, Zeynalova AM. Composition and content of flavonoids of *Hippophae rhamnoides* L. leaves growing in Azerbaijan. *Chemistry of Plant Raw Material*. 2018;(3):209–14 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.14258/jcprm.2018033772>
7. Dharam PA, Amrit KS, Jyoti K, Tanveer N. Pharmacognostical characterization and preliminary phytochemical investigation of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;2(2):108–13.  
<https://doi.org/10.35652/IGJPS.2012.13>
8. Criste A, Urcan AC, Bunea A, Furtuna FRP, Olah NK, Madden RH, et al. Phytochemical composition and biological activity of berries and leaves from four Romanian sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) varieties. *Molecules*. 2020;25(5):1170.  
<https://doi.org/10.3390/molecules25051170>
9. Tkacz K, Wojdyło A, Turkiewicz P, Nowicka P. Triterpenoids, phenolic compounds, macro- and microelements in anatomical parts of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries, branches and leaves. *J Food Compos Anal*. 2021;103:104107.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104107>
10. Нилова ЛП, Малютенкова СМ. Антиоксидантные комплексы облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) северо-запада России. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*. 2021;83(1):108–14.  
Nilova LP, Malyutenkova SM. Antioxidant complexes of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) of north-west Russia. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2021;83(1):108–14 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.20914/2310-1202-2021-1-108-114>
11. Kumar MS, Dutta R, Prasad D, Misra K. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves for the comparative evaluation of antioxidant activity. *Food Chem*. 2011;127(3):1309–16.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.088>
12. Ji M, Gong X, Li X, Wang C, Li M. Advanced research on the antioxidant activity and mechanism of polyphenols from *Hippophae* species—a review. *Molecules*. 2020;25(4):917.  
<https://doi.org/10.3390/molecules25040917>
13. Исачкин АВ, Зубик ИН, Потапова АВ, Ермаков МА. Корреляционный анализ фенофаз и феноинтервалов у сортов облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) в коллекции ГБС РАН им. Н.В. Цицина. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2019;(2):64–9.  
Isachkin AV, Zubik IN, Potapova AV, Ermakov MA. Correlation analysis of phenophases and pheno intervals in varieties of buckwheat (*Hippophae rhamnoides* L.) in the collection of GBS RAS IM. N.V.CYSTSINA. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2019;(2):64–9 (In Russ.).  
EDN: [ZBKJHV](#)
14. Коруткин ДЮ, Абилов ЖА, Музычкина РА, Толстиков ГА. *Природные флавоноиды*. Новосибирск: Тео; 2007.  
Korutkin DY, Abilov ZhA, Muzychkina RA, Tolstikov GA. *Natural flavonoids*. Novosibirsk: Geo; 2007 (In Russ.).
15. Лесовая ЖС, Писарев ДИ, Новиков ОО, Романова ТА. Разработка методики количественного определения флавоноидов в траве манжетки обыкновенной *Alchemilla vulgaris* L.S.L. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2010;22–2(93):145–9.  
Lesovaya ZhS, Pisarev DI, Novikov OO, Romanova TA.

- Development of methods of quantitative determination of flavonoids in *Alchemilla vulgaris* L.S.L. *Belgorod State University Scientific Bulletin. Series: Medicine. Pharmacy*. 2010;22–2(93):145–9 (In Russ.).  
EDN: [NDAWKL](#)
16. Дроздова ИЛ, Лупилина ТИ. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в траве икотника серого. *Человек и его здоровье*. 2016;(1):106–12.  
Drozdova IL, Lupilina TI. Development and validation of methods of quantitative determination of flavonoids in *Berteroa incana* herb. *Humans and Their Health*. 2016;(1):106–12 (In Russ.).  
EDN: [VSZEKY](#)
17. Тринеева ОВ, Рудая МА, Перова ИБ, Сливкин АИ, Эллер КИ. Изучение профиля флавоноидов плодов облепихи крушиновидной различных сортов. *Биофармацевтический журнал*. 2021;13(3):22–9.  
Trineeva OV, Rudaya MA, Perova IB, Slivkin AI, Eller KI. Studying the profile of flavonoids of fruits of sea buckthorn various varieties. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2021;13(3):22–9 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.30906/2073-8099-2021-13-3-22-29>
18. Олешко ОА, Кондратьева НА. Определение подлинности и количественного содержания биологически активных веществ в экстракте неомикон сухом. *Современные проблемы науки и образования*. 2015;(2–3):238.  
Oleshko OA, Kondratyeva NA. Determination of authenticity and the quantitative content of biologically active agents in neomicon extract dry. *Modern Problems of Science and Education*. 2015;(2–3):238 (In Russ.).  
EDN: [VBRFQT](#)
19. Рудаков ОБ, Востров ИА, Федоров СВ, Филиппов АА, Селеменев ВФ, Приданцев АА. *Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии*. Воронеж: Водолей; 2003.  
Rudakov OB, Vostrov IA, Fedorov SV, Filippov AA, Selemenev VF, Pridantsev AA. *A chromatographer's companion. Methods of liquid chromatography*. Voronezh: Vodoley; 2003 (In Russ.).

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Н.А. Ковалёва — валидация разработанной методики; О.В. Тринеева — расчеты и статистическая обработка полученных результатов, написание текста рукописи; И.В. Чувикова — разработка методики; А.И. Сливкин — утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

**Благодарности.** Работа выполнена без спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Natalia A. Kovaleva validated the analytical procedure. Olga V. Trineeva carried out calculations and statistical analysis of the results and drafted the manuscript. Irina V. Chuvikova developed the analytical procedure. Alexey I. Slivkin approved the final version of the manuscript for publication.

**Acknowledgements.** The study was performed without external funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Ковалёва Наталья Александровна**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3507-5665>  
[natali-sewer@yandex.ru](mailto:natali-sewer@yandex.ru)

**Тринеева Ольга Валерьевна**, д-р фарм. наук, доцент

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>  
[trineevaov@mail.ru](mailto:trineevaov@mail.ru)

**Чувикова Ирина Вячеславовна**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5333-0781>  
[ira.chuvikova.01@mail.ru](mailto:ira.chuvikova.01@mail.ru)

**Сливкин Алексей Иванович**, д-р фарм. наук, профессор

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6934-0837>  
[slivkin@pharm.vsu.ru](mailto:slivkin@pharm.vsu.ru)

**Natalia A. Kovaleva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3507-5665>  
[natali-sewer@yandex.ru](mailto:natali-sewer@yandex.ru)

**Olga V. Trineeva**, Dr. Sci. (Pharm.), Associate Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>  
[trineevaov@mail.ru](mailto:trineevaov@mail.ru)

**Irina V. Chuvikova**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5333-0781>  
[ira.chuvikova.01@mail.ru](mailto:ira.chuvikova.01@mail.ru)

**Alexey I. Slivkin**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6934-0837>  
[slivkin@pharm.vsu.ru](mailto:slivkin@pharm.vsu.ru)

Поступила 12.01.2023

После доработки 27.02.2023

Принята к публикации 07.03.2023

Online first 19.05.2023

Received 12 January 2023

Revised 27 February 2023

Accepted 7 March 2023

Online first 19 May 2023

УДК 615.072

<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-455>

Обзорная статья | Review



Г. Шмидт<sup>1</sup>   
Ж. Соьер<sup>1</sup>   
К. Зриби<sup>2</sup>   
Р. ван дер Верф<sup>3</sup>

## Международная фармакопея: основные направления деятельности, организация работы, борьба с COVID-19 и сотрудничество с другими фармакопеями

<sup>1</sup> Всемирная организация здравоохранения,  
авеню Анпиа, д. 20, г. Женева, 27 (1211), Швейцария

<sup>2</sup> Фармацевтический факультет Университета г. Монастир,  
ул. Авиценны, д. 1, г. Монастир, 5000, Тунис

<sup>3</sup> Европейский директорат по качеству лекарственных средств  
и здравоохранению,  
аллея Кастнер, д. 7, г. Страсбург, CS 30026, F-67081, Франция

✉ Герберт Шмидт; [schmidth@who.int](mailto:schmidth@who.int)

### РЕЗЮМЕ

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) занимается разработкой и распространением международных стандартов для лекарственных средств, чтобы обеспечить всеобщий доступ к гарантированно качественным препаратам и оградить пациентов от недоброкачественных и фальсифицированных лекарственных средств. Международная фармакопея — один из важнейших результатов работы ВОЗ в этой области. В статье рассмотрены основные направления деятельности Международной фармакопеи, порядок подбора текстов для включения в издание или их пересмотра, участие в борьбе с COVID-19 и сотрудничество с другими фармакопеями. Фармакопеи предлагают общедоступные стандарты (в виде текстов с требованиями и стандартных образцов), позволяющие обеспечить качество лекарственных средств за счет нормирования показателей, наиболее важных для безопасности и эффективности. Фармакопейные стандарты представлены методами анализа подлинности, чистоты и состава лекарственных средств, критериями приемлемости получаемых результатов, а также информацией о хранении, маркировке и производстве лекарственных средств. Наличие фармакопейных монографий существенно упрощает разработку воспроизведенных лекарственных средств согласно заданным минимальным стандартам качества, которым должен соответствовать препарат, чтобы можно было считать его сопоставимым с оригинальным препаратом (или несколькими) по безопасности, качеству и эффективности. Особенность Международной фармакопеи состоит в том, что основные усилия прикладываются к созданию монографий, актуальных для стран с низким и средним уровнем дохода, где может быть недостаточно ресурсов для разработки собственных фармакопей. В условиях глобализации лекарственные препараты, медицинские изделия и косметические средства часто импортируют из стран с разными стандартами регулирования и требованиями к медицинской продукции. При реагировании на чрезвычайные ситуации глобального характера в области общественного здравоохранения, такие как пандемия COVID-19, требуется оперативно проверять качество лекарственных средств и как можно быстрее с учетом интересов всех сторон обеспечить населению доступ к ним, что делает Международную фармакопею крайне необходимой.

**Ключевые слова:** Всемирная организация здравоохранения; Международная фармакопея; международные химические стандартные образцы; жизненно необходимые и важнейшие лекарственные препараты; преквалификация лекарственных средств

**Для цитирования:** Шмидт Г., Соьер Ж., Зриби К., ван дер Верф Р. Международная фармакопея: основные направления деятельности, организация работы, борьба с COVID-19 и сотрудничество с другими фармакопеями. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(2):227–239. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-455>

Статья поступила в редакцию на английском языке. Перевод на русский язык Л.А. Балтиной.

H. Schmidt<sup>1</sup>   
J. Sawyer<sup>1</sup>   
K. Zribi<sup>2</sup>   
R. van der Werf<sup>3</sup> 

## The International Pharmacopoeia: Focus, Processes, Response to COVID-19 and Collaboration with other Pharmacopoeias

<sup>1</sup> World Health Organisation,  
20, avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland

<sup>2</sup> Faculty of Pharmacy, University of Monastir,  
1, Ibn Sina Street, 5000 Monastir, Tunisia

<sup>3</sup> European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare,  
7, allée Kastner, CS 30026, F-67081 Strasbourg, France

✉ Herbert Schmidt; [schmidt@who.int](mailto:schmidt@who.int)

### ABSTRACT

The World Health Organisation develops and promotes international standards for pharmaceutical products, in support of efforts to increase access to quality-assured medicines for all, and to safeguard patients from substandard and falsified medicines. The International Pharmacopoeia is a key output of this work. Its focus, processes to establish texts for inclusion or revision, response to COVID-19 and the collaboration with other Pharmacopoeias shall be discussed in this review. Pharmacopoeias provide public standards (written norms as well as physical reference standards), which ensure the quality of medicines by defining the attributes that are essential to their safety and efficacy. They consist of analytical methods to test for the identity, purity and content of pharmaceutical products, together with acceptance criteria to evaluate test results, and information about storage, labelling and production. Pharmacopoeias greatly facilitate the development of multi-source medicines (generics) by defining minimum quality standards that a group of medicines must meet in order to be considered of commensurate safety, quality and effectiveness as the originator product(s). The added value of The International Pharmacopoeia lies in its focus on monographs of particular relevance to low- and middle-income countries which may not have sufficient resources to develop national pharmacopoeias. In a globalised world, where medicines and health products are frequently sourced from several countries with differing regulatory standards and requirements, and when the response to Public Health Emergencies of International Concern, like the COVID-19 pandemic, necessitates swift and equitable access to urgently needed quality-assured therapeutics, such a resource is indispensable.

**Key words:** World Health Organisation; The International Pharmacopoeia; International Chemical Reference Substances; essential medicines; prequalification of medicines

**For citation:** Schmidt H., Sawyer J., Zribi K., van der Werf R. The International Pharmacopoeia: focus, processes, response to COVID-19 and collaboration with other pharmacopoeias. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):227–239. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-455>

### Введение

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) уже более 70 лет, с момента основания, занимается разработкой и распространением

международных стандартов для лекарственных средств, чтобы обеспечить всех пациентов доступными и гарантированно качественными препаратами и оградить от недоброкачественных



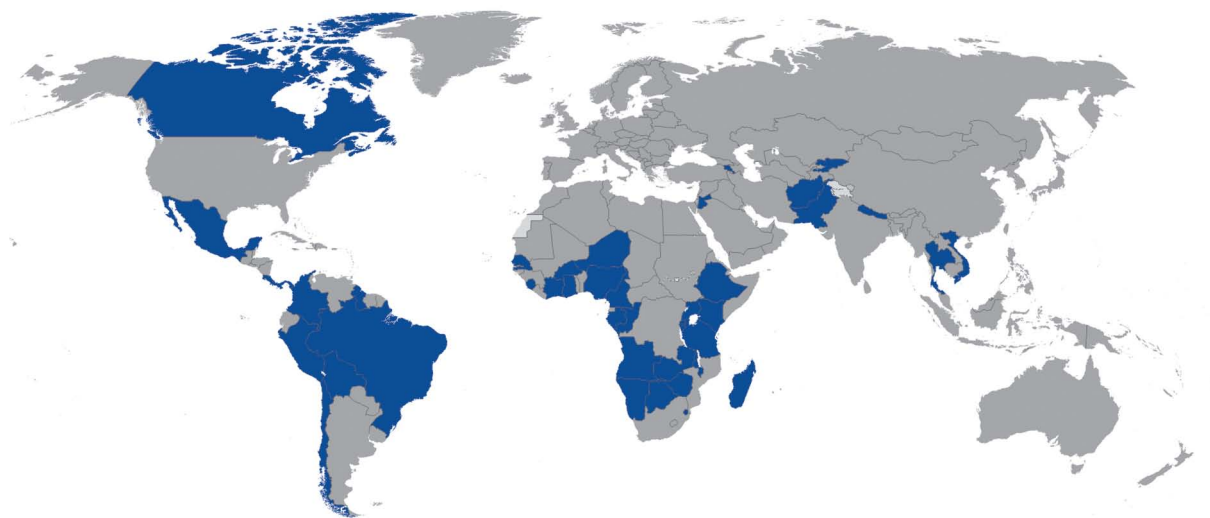
и фальсифицированных. Один из важнейших результатов работы ВОЗ в этой области – Международная фармакопея<sup>1</sup>.

В отличие от фармакопей государств (таких как Британская фармакопея, Индийская фармакопея, Японская фармакопея или Фармакопея США) или регионов (таких как Европейская фармакопея), Международная фармакопея не имеет официального статуса, но страны ВОЗ могут признать ее положения и включить их частично или полностью в свои регуляторные документы. На рисунке 1 приведены примеры стран-членов ВОЗ, в законодательстве или руководствах регуляторных органов которых даются ссылки на Международную фармакопею.

Первый том Международной фармакопеи был издан в 1951 г. С тех пор целью публикации было описание требований к качеству отдельных лекарственных средств синтетического происхождения, в первую очередь лекарственных субстанций, готовых препаратов, вспомогательных веществ и радиофармацевтических препаратов. С течением времени задачи

Международной фармакопеи менялись: сначала основным направлением работы была унификация стандартов<sup>2</sup>, а позже на первый план вышло создание сборника требований к качеству лекарственных средств, которые считаются важнейшими для восполнения первоочередных потребностей медицины и часто нацелены на лечение пациентов в странах с низким и средним уровнем дохода (low- and middle-income countries, LMIC), в которых бремя болезней оказывает существенное влияние на экономику. Это лекарственные средства, которые входят в Примерный перечень основных лекарственных средств ВОЗ (Essential Medicines List, EML)<sup>3</sup>, приводятся в Приглашениях производителей к выражению заинтересованности в оценке их продукции группой ВОЗ по преквалификации (Expression of Interest, EOI)<sup>4</sup> и (или) упоминаются в руководствах ВОЗ по лечению.

Кроме того, работа ВОЗ над нормами и стандартами для лекарственных средств важна для стран-членов ВОЗ и для остальных специализированных учреждений ООН, а также для других международных организаций



**Рис. 1.** Страны-члены Всемирной организации здравоохранения, в которых ссылаются на Международную фармакопею (выделены синим). Информация получена из базы данных Cortellis CMC<sup>5</sup> Intelligence. Международную фармакопею признают фармакопейным стандартом в 44 из 114 стран ВОЗ, которые поделились такой информацией

**Fig. 1.** WHO Member States referring to The International Pharmacopoeia (highlighted in blue). The information is based on the Cortellis CMC<sup>5</sup> Intelligence database. Of the 114 Member States that shared this information, 44 accept The International Pharmacopoeia as a compendial standard

<sup>1</sup> The International Pharmacopoeia. Geneva, World Health Organisation. <https://www.who.int/teams/health-product-and-policy-standards/standards-and-specifications/norms-and-standards-for-pharmaceuticals/pharmacopoeia>; <https://apps.who.int/phint>

<sup>2</sup> The unification of Pharmacopoeias. Interim report of the Technical Commission of Pharmacopoeial Experts. *Analyst*. 1946;71:494–5. <https://doi.org/10.1039/AN946710494B>

<sup>3</sup> WHO/MHP/HPS/EML/2021.02. World Health Organisation Model List of Essential Medicines – 22nd List, 2021. Geneva: World Health Organisation; 2021.

<sup>4</sup> FPPs & APIs Eligible for Prequalification. Geneva, World Health Organisation. <https://extranet.who.int/pqweb/medicines/products-eligible-prequalification>

<sup>5</sup> CMC: chemistry, manufacturing and controls. <https://clarivate.com/products/biopharma/regulatory-compliance/chemistry-manufacturing-controls-intelligence-analysis/>

здравоохранения, таких как «Инициативная программа Фонда Клинтона по обеспечению доступа к услугам здравоохранения», организаций с участием государственного и частного капитала, таких как «Врачи без границ», и благотворительных организаций, таких как «Фонд Билла и Мелинды Гейтс».

### Ценность фармакопей

#### **Упрощение производства и регистрации.**

Фармакопеи позволяют оптимизировать взаимодействие производителей и регуляторных органов: облегчить подготовку и оценку подаваемых документов и повысить единообразие решений, принимаемых при регулировании. Благодаря этому производители и регуляторные органы могут сэкономить время и ресурсы. Более того, определение минимальных стандартов, которым должно соответствовать лекарственное средство, чтобы считаться безопасным, качественным и эффективным, создает равные условия для всех производителей. То есть требования, которым необходимо соответствовать, одинаковы для всех и, как следствие, регулирование становится более справедливым, а конкуренция более добросовестной, что приводит к развитию производства на местах<sup>6</sup>.

#### **Гарантия безопасности лекарственных средств.**

Если врачи и пациенты применяют лекарственное средство и знают, что оно соответствует фармакопейным стандартам, растет уверенность в его безопасности. С помощью описанных в фармакопее испытаний независимые лаборатории могут удостовериться в качестве лекарственных средств, и при этом им не нужно оценивать спецификации и методы испытаний, предоставленные производителем. На основании полученных результатов надлежащие органы могут оперативно оповестить медицинских работников и пациентов о проблемах с качеством или о недоброкачественных или фальсифицированных лекарственных средствах, а также, при необходимости, начать судебное разбирательство.

### Дополнительное преимущество Международной фармакопеи

**Служба интересам стран с низким и средним уровнем доходов.** В государственных и региональных фармакопеях обычно описаны препараты, которые зарегистрированы на соответствующих территориях и приоритетны

для нужд здравоохранения этих стран и регионов. Но в странах с низким и средним уровнем дохода недостаточно ресурсов для разработки и поддержания своих фармакопей, и поэтому монографий, которые особенно важны для таких стран, не хватает. В этих странах, например, актуальны монографии на препараты против малярии, туберкулеза или «забытых» тропических болезней. Международная фармакопея решает эту проблему, сделав такие препараты своим приоритетом. В то же время она дополняет фармакопеи развитых стран, поскольку уделяет внимание, например, лекарственным средствам от значимых неинфекционных заболеваний, таких как сахарный диабет и сердечно-сосудистые заболевания.

#### **Взаимодействие с ВОЗ по иным направлениям.**

Одним из направлений работы ВОЗ является преквалификация (оценка качества, безопасности и эффективности) лекарственных средств. Первоначально, в 2001 г., в центре внимания Программы ВОЗ по преквалификации были препараты для терапии ВИЧ/СПИДа, затем программа была распространена на препараты против туберкулеза и малярии. Позже в программу вошли лекарственные средства для охраны репродуктивного здоровья, лечения острой диареи, гепатита В и С, а также инфекционных заболеваний у новорожденных и младенцев, пневмонии у детей, гриппа, «забытых» тропических болезней и, совсем недавно, некоторые биопрепараты, применяемые против COVID-19. Фундаментом для программы выступают нормы и стандарты качества и безопасности лекарственных средств, созданные ВОЗ, в том числе и монографии Международной фармакопеи<sup>7</sup>.

Международная фармакопея также способствует ВОЗ в борьбе с распространением недоброкачественных и фальсифицированных лекарственных средств и в работе по увеличению производства на местах, так как предоставление четко определенной информации о целевых показателях качества и методах анализа имеет принципиальную важность для определения подлинности, чистоты и состава лекарственного средства.

### Процесс разработки монографий для включения в Международную фармакопею

Разработка монографий для Международной фармакопеи — открытый и прозрачный процесс,

<sup>6</sup> White Paper for the WHO International Meeting of World Pharmacopoeias, Value of Pharmacopoeial Standards for Access to Quality Medicines. Geneva; World Health Organisation. [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/value-of-pharm-stds-updated-final-oct-2020.pdf?sfvrsn=2d4e5052\\_4](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/value-of-pharm-stds-updated-final-oct-2020.pdf?sfvrsn=2d4e5052_4)

<sup>7</sup> World Health Organisation Prequalification. Geneva; World Health Organisation. <https://extranet.who.int/pqweb/>

который ведется с привлечением групп экспертов из разных стран, сотрудничающих центров ВОЗ и партнерских лабораторий. При этом соблюдаются правила относительно конфликта интересов и сохранения конфиденциальности и признаются международные стандарты, в том числе надлежащая фармакопейная практика<sup>8</sup>.

Описываемые в монографиях методики анализа и соответствующие предельные значения результатов обычно разрабатываются и валидируются производителями, а затем официально одобряются регуляторными органами или группой ВОЗ по преквалификации лекарственных средств. Особое внимание уделяется методам, которые можно применять по всему миру, в том числе в странах с ограниченным количеством ресурсов и в отдаленных районах. С этой целью пользователям фармакопеи предлагается несколько вариантов контроля качества: от хорошо изученных и робастных (устойчивых к изменениям) традиционных химических методов анализа или тонкослойной хроматографии до методов, предполагающих использование современного оборудования, таких как инфракрасная спектроскопия и высокоэффективная жидкостная хроматография. Таким образом, у пользователей появляется возможность выбрать доступный и подходящий для применения в конкретных условиях метод.

Для количественного анализа фармацевтических субстанций предпочтительнее не относительные, а абсолютные методы, такие как титрование или спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой области спектра. В таких случаях специфичность количественного определения обеспечивается за счет сочетания с другими испытаниями, описанными в монографии.

Согласно руководству ICH Q6A, не считается необходимым проводить испытания готового препарата на технологические примеси, если они контролируются при анализе фармацевтической субстанции и не являются продуктами разложения<sup>9</sup>. Составители Международной фармакопеи, когда это возможно, включают одинаковые методы анализа на родственные примеси для готовых лекарственных препаратов и соответствующих фармацевтических субстанций,

чтобы пользователи могли оценить, соответствует ли качество использованной в производстве препарата субстанции фармакопейным требованиям. После регистрации, на этапе надзора, получить доступ к образцам фармацевтической субстанции часто невозможно, поэтому такие методы испытаний необходимы.

Положения проектов монографий проверяются с помощью лабораторных исследований, включающих анализ образцов зарегистрированных препаратов из разных регионов мира, и могут быть изменены или оптимизированы в зависимости от результатов.

ВОЗ обращается с предложением прокомментировать проекты текстов к заинтересованным сторонам со всего мира, в том числе к представителям стран — членов организации, национальных регуляторных органов, других фармакопей и других специализированных учреждений ООН, производителей и ассоциаций производителей, лабораторий по контролю качества. Также предусмотрена возможность получить обратную связь за счет публикации на странице сайта ВОЗ для обсуждения проектов<sup>10</sup>. Полученные замечания прорабатывают с теми экспертами, которые принимали участие в установлении вызвавших вопросы требований. При необходимости могут быть организованы лабораторные исследования, результаты которых будут учтены при пересмотре монографий. После завершения пересмотра проекты текстов и связанные с ними данные лабораторного анализа, а также подборку всех полученных комментариев подают Комитету экспертов по спецификациям для фармацевтических препаратов (Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, ECSP) для ознакомления, обсуждения и (или) возможного утверждения в зависимости от степени готовности текста. Если Комитет утверждает текст монографии, то она публикуется в следующем издании Международной фармакопеи.

### План работы над Международной фармакопеей

Чтобы работа над Международной фармакопеей наилучшим образом соответствовала ожиданиям государств-членов и нуждам программ

<sup>8</sup> Procedure for the elaboration, revision and omission of monographs and other texts for The International Pharmacopoeia. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: Fifty-fourth report. Geneva: World Health Organisation; 2020: Annex 1. <https://www.who.int/publications/i/item/978-92-4-000182-4>

<sup>9</sup> ICH Harmonised Tripartite Guideline; Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances Q6A. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; 1999. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q6A%20Guideline.pdf>

<sup>10</sup> Monographs and general texts under review/revision for inclusion in The International Pharmacopoeia. Geneva; World Health Organisation. <https://www.who.int/teams/health-product-and-policy-standards/standards-and-specifications/pharmaceuticals/working-documents-public-consultation>

ВОЗ, каждые два года необходимо проверять, на какие из признанных приоритетными лекарственных средств еще нет общедоступного стандарта качества ни в одной из ведущих фармакопей. Сравнивают, какие готовые лекарственные препараты вошли в последние EML<sup>11</sup> или в EOI<sup>12</sup> и какие уже описаны в новых изданиях четырех фармакопей, публикующих монографии на готовые препараты и признанных группой ВОЗ по преквалификации (Британской, Международной, Японской и США). Последний из таких обзоров, проведенный после публикации 21-го EML, показал, что на данный момент из 691 лекарственного средства, которые упомянуты в этом EML или в недавних EOI, на 186 (27%) нет общедоступных стандартов и/или текстов в одной или нескольких из четырех приведенных выше фармакопей. 20% из этих 186 лекарственных средств – противовирусные препараты, 19% – препараты против туберкулеза.

С момента основания Программы ВОЗ по преквалификации в 2001 г. в Международной фармакопее уделяется особое внимание лекарственным средствам, которые соответствуют критериям для проведения преквалификации. На данный момент в Международной фармакопее присутствуют монографии приблизительно на 30–60% этих лекарственных средств, в зависимости от соответствующего раздела EML (табл. 1). Достаточно хорошо описаны, например, препараты от тропических болезней (охвачено ~60%) и малярии (охвачено ~50%). Лекарственные средства, которые не отвечают критериям для преквалификации или отвечают им в меньшей степени (например, препараты инсулина или препараты для лечения онкологических заболеваний), представлены в Международной фармакопее меньшим числом монографий.

Работа над Международной фармакопеей в поддержку Программы преквалификации будет продолжаться: 46 из 186 вышеупомянутых лекарственных средств вошли в 21-й EML, соответствуют критериям для преквалификации и упомянуты в соответствующих EOI, но пока не охвачены общедоступными стандартами качества и не описаны в Международной фармакопее. В списке ниже перечислены лекарственные средства, разработка монографий на которые признана приоритетом в плане работы на 2022–2023 гг.

- 1) Абакавир и ламивудин, таблетки диспергируемые / Abacavir and lamivudine dispersible tablets;
- 2) Абакавир, таблетки диспергируемые / Abacavir dispersible tablets;
- 3) Амодиахин, таблетки диспергируемые / Amodiaquine dispersible tablets;
- 4) Амфотерицин В (липосомальный комплекс) для инъекций / Amphotericin B liposomal complex for injection;
- 5) Артемизинин и люмефантрин, таблетки диспергируемые / Artemether and lumefantrine dispersible tablets;
- 6) Артемизинин и пиперакина фосфат, таблетки / Artemisinin and piperaquine phosphate tablets;
- 7) Артемизинин и амодиахин, таблетки / Artesunate and amodiaquine tablets;
- 8) Артемизинин и мефлохин, таблетки / Artesunate and mefloquine tablets;
- 9) Артемизинин и пириаридин, таблетки / Artesunate and pyronaridine tablets;
- 10) Артемизинин, капсулы ректальные / Artesunate rectal capsules;
- 11) Атазанавир и ритонавир, таблетки / Atazanavir and ritonavir tablets;
- 12) Барцитиниб, таблетки / Baricitinib tablets;
- 13) Бедахилин, таблетки / Bedaquiline tablets;
- 14) Карбетоцин для инъекций / Carbetocin injection;
- 15) Клофазимин, таблетки / Clofazimine tablets;
- 16) Дарунавир, таблетки / Darunavir tablets;
- 17) Дасабувир, таблетки / Dasabuvir tablets;
- 18) Деламаид, таблетки / Delamanid tablets;
- 19) Долутегравир, таблетки / Dolutegravir tablets;
- 20) Эстрадиола ципионат и медроксипрогестерона ацетат для инъекций / Estradiol cypionate and medroxyprogesterone acetate injection;
- 21) Этambutol, таблетки диспергируемые / Ethambutol dispersible tablets;
- 22) Этионамид, таблетки диспергируемые / Ethionamide dispersible tablets;
- 23) Фексинидазол, таблетки / Fexinidazole tablets;
- 24) Изониазид, таблетки диспергируемые / Isoniazid dispersible tablets;
- 25) Ламивудин, тенофовира дизопроксил фумарат и долутегравир, таблетки / Lamivudine, tenofovir disoproxil fumarate and dolutegravir tablets;
- 26) Ледипасвир и софосбувир, таблетки / Ledipasvir and sofosbuvir tablets;
- 27) Левофлоксацин, таблетки диспергируемые / Levofloxacin dispersible tablets;

<sup>11</sup> WHO/MHP/HPS/EML/2021.02. World Health Organisation Model List of Essential Medicines – 22nd List, 2021. Geneva: World Health Organisation; 2021.

<sup>12</sup> FPPs & APIs Eligible for Prequalification. Geneva, World Health Organisation. <https://extranet.who.int/pqweb/medicines/products-eligible-prequalification>



**Таблица 1.** Доля лекарственных средств, охваченных монографиями Международной фармакопеи, в соответствии с разделами Примерного перечня основных лекарственных средств ВОЗ\***Table 1.** Percentage coverage of monographs in The International Pharmacopoeia per pharmacological section of the Essential Medicines List\*

| Раздел<br><i>Section</i>                                                                                                                                                                               | Имеющиеся<br>монографии, шт.<br><i>Existing<br/>Monographs, pieces</i> | Планируемые<br>монографии**, шт.<br><i>Candidate<br/>Monographs**, pieces</i> | Удовлетворенная<br>потребность<br>в монографиях, %<br><i>Coverage, % (overall)</i> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Лекарственные средства, применяемые для охраны репродуктивного здоровья и при оказании помощи новорожденным, детям и подросткам<br><i>Medicines for maternal, newborn, child and adolescent health</i> | 14                                                                     | 24                                                                            | 37                                                                                 |
| Противомалярийные лекарственные средства<br><i>Antimalarial medicines</i>                                                                                                                              | 17                                                                     | 17                                                                            | 50                                                                                 |
| Противовирусные лекарственные средства, включая антиретровирусные<br><i>Antiviral medicines including antiretrovirals</i>                                                                              | 27                                                                     | 51                                                                            | 35                                                                                 |
| Противотуберкулезные лекарственные средства<br><i>Antituberculosis medicines</i>                                                                                                                       | 19                                                                     | 47                                                                            | 29                                                                                 |
| Лекарственные средства для лечения тропических болезней<br><i>Medicines for tropical diseases</i>                                                                                                      | 23                                                                     | 16                                                                            | 59                                                                                 |
| Лекарственные средства, применяемые при хронических заболеваниях, в том числе при психических расстройствах<br><i>Medicines for chronic diseases and for mental health</i>                             | 6                                                                      | 104                                                                           | 5                                                                                  |
| Прочие противоинфекционные лекарственные средства<br><i>Other medicines for infectious diseases</i>                                                                                                    | 17                                                                     | 61                                                                            | 22                                                                                 |
| Лекарственные средства, применяемые при заболеваниях крови<br><i>Haemopathy medicines</i>                                                                                                              | 0                                                                      | 7                                                                             | 0                                                                                  |
| Лекарственные средства, действующие на желудочно-кишечный тракт<br><i>Gastrointestinal medicines</i>                                                                                                   | 0                                                                      | 20                                                                            | 0                                                                                  |
| Лекарственные средства, применяемые для анестезии, уменьшения боли и в паллиативной терапии<br><i>Medicines for anaesthesia, pain and palliative care</i>                                              | 7                                                                      | 33                                                                            | 17                                                                                 |
| Иммуномодуляторы и противоопухолевые лекарственные средства<br><i>Immunomodulators and antineoplastics</i>                                                                                             | 2                                                                      | 67                                                                            | 3                                                                                  |
| Лекарственные средства, применяемые при нарушениях питания<br><i>Medicines for nutrition disorders</i>                                                                                                 | 2                                                                      | 30                                                                            | 6                                                                                  |
| Противоаллергические лекарственные средства и средства, применяемые при анафилактических реакциях<br><i>Antiallergics and medicines used in anaphylaxis</i>                                            | 0                                                                      | 2                                                                             | 0                                                                                  |
| Антидоты и другие вещества, применяемые при отравлениях<br><i>Antidotes and other substances used in poisonings</i>                                                                                    | 1                                                                      | 12                                                                            | 8                                                                                  |
| Прочие лекарственные средства, применяемые при нарушениях со стороны эндокринной системы<br><i>Other medicines for endocrine diseases</i>                                                              | 0                                                                      | 8                                                                             | 0                                                                                  |
| Миорелаксанты и противоревматические препараты, модифицирующие течение болезни<br><i>Muscle relaxants and disease-modifying anti-rheumatic medicines</i>                                               | 0                                                                      | 9                                                                             | 0                                                                                  |
| Офтальмологические и дерматологические лекарственные средства<br><i>Ophthalmological and dermatological medicines</i>                                                                                  | 0                                                                      | 40                                                                            | 0                                                                                  |



Продолжение таблицы 1

Table 1 (continued)

| Раздел<br><i>Section</i>                                                                       | Имеющиеся<br>монографии, шт.<br><i>Existing<br/>Monographs, pieces</i> | Планируемые<br>монографии**, шт.<br><i>Candidate<br/>Monographs**, pieces</i> | Удовлетворенная<br>потребность<br>в монографиях, %<br><i>Coverage, % (overall)</i> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Лекарственные средства, применяемые в связи<br>с COVID-19<br><i>COVID-19 related medicines</i> | 2                                                                      | 6                                                                             | 25                                                                                 |
| Всего / <i>Total</i>                                                                           | 137                                                                    | 554                                                                           | 20                                                                                 |

\* Для удобства некоторые разделы EML в таблице объединены в более общие группы.

\*\* Монографии на лекарственные средства, вошедшие в Примерный перечень основных лекарственных средств ВОЗ (Essential Medicines List, EML) или упомянутые в соответствующих Приглашениях производителей к выражению заинтересованности в оценке группой ВОЗ по преквалификации (Expression of Interest, EOI), которых пока нет в Международной фармакопее.

\* For simplicity, some of the sections in the Essential Medicines List have been subsumed under overarching groups.

\*\* Candidate monographs describe medicines that are either mentioned in the Essential Medicines List or in a relevant Expression of Interest and for which a monograph in The International Pharmacopoeia has not yet been developed.

28) Линезолид, таблетки диспергируемые / Linezolid dispersible tablets;  
 29) Линезолид, порошок для приготовления суспензии / Linezolid powder for suspension;  
 30) Линезолид, таблетки / Linezolid tablets;  
 31) Мифепристон, таблетки / Mifepristone tablets;  
 32) Милтефозин, капсулы / Miltefosine capsules;  
 33) Молнупиравир, капсулы / Molnupiravir capsules;  
 34) Моксифлоксацин, таблетки диспергируемые / Moxifloxacin dispersible tablets;  
 35) Нирматрелвир, таблетки / Nirmatrelvir tablets;  
 36) Норэтистерона энантат для инъекций / Norethisterone enantate injection;  
 37) Омбитасвир, паритапревир и ритонавир, таблетки / Ombitasvir, paritaprevir and ritonavir tablets;  
 38) Осельтамивир, порошок для приготовления суспензии для приема внутрь / Oseltamivir powder for oral suspension;  
 39) Пара-аминосалициловая кислота, гранулы для приготовления раствора для приема внутрь / P-Aminosalicylic acid granules for oral solution;  
 40) Паромомицин сульфат для внутримышечного введения / Paromomycin sulfate for intramuscular injection;  
 41) Пиразинамид, таблетки диспергируемые / Pyrazinamide dispersible tablets;  
 42) Пириметамин и сульфадоксин, таблетки диспергируемые / Pyrimethamine and sulfadoxine dispersible tablets;  
 43) Рифабутин, таблетки / Rifabutin tablets;  
 44) Рифапентин, таблетки / Rifapentine tablets;

45) Софосбувир и велпатасвир, таблетки / Sofosbuvir and velpatasvir tablets;  
 46) Улипристала ацетат, таблетки / Ulipristal acetate tablets.

### Борьба с пандемией COVID-19

По состоянию на 6 февраля 2022 г. ВОЗ сообщила о 392 миллионах подтвержденных случаев заражения SARS-CoV-2 и о более 5,7 миллионов смертей<sup>13</sup>. Международная фармакопея оказывает ВОЗ поддержку в обеспечении качества и безопасности препаратов против COVID-19, упомянутых в вариативных рекомендациях ВОЗ по лекарственной терапии при COVID-19<sup>14</sup>, и в упрощении их производства, регистрации и закупки путем разработки новых или пересмотра опубликованных монографий. Поскольку основное направление работы Международной фармакопеи — препараты синтетического происхождения, характеристики которых можно определить с помощью физико-химических методов анализа (в отличие от биопрепаратов, для которых требуются те или иные биологические методы), были разработаны новые монографии на ремдесивир и молнупиравир и пересмотрена монография на медицинский кислород. Монографии на кортикостероидные препараты системного действия, такие как дексаметазон-фосфат, в Международной фармакопее уже были, а описанные методы испытаний и соответствующие предельные значения для результатов анализа пока не потеряли актуальности и отражают последние научно-технические достижения. Разработка следующих монографий будет проводиться после того, как представляющие

<sup>13</sup> Weekly epidemiological update on COVID-19. Geneva; World Health Organisation. <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---8-february-2022>

<sup>14</sup> Therapeutics and COVID-19, Living Guideline. Geneva; World Health Organisation. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-therapeutics-2022.1>

интерес лекарственных средства оценят независимые эксперты, которые консультируют группу ВОЗ по разработке рекомендаций (Guideline Development Group, GDG).

**Ремдесивир** — инновационное лекарственное средство, относящееся к монофосфорамидатам, аналогам аденозина, неактивный предшественник, который в процессе обмена веществ преобразуется в фармакологически активный нуклеозидтрифосфат и подавляет синтез вирусной РНК. Ремдесивир проявляет активность *in vitro* и *in vivo* против некоторых вирусов, в число которых входит и SARS-CoV-2. В марте 2020 г. было начато крупное международное открытое рандомизированное исследование по оценке влияния ремдесивира на смертность пациентов, госпитализированных с COVID-19<sup>15</sup>. По результатам этого и других исследований GDG выпустила условную рекомендацию не применять ремдесивир для стационарного лечения пациентов с COVID-19. В GDG сочли, что свидетельств значимого для пациентов улучшения исхода болезни на фоне приема ремдесивира, например сокращения смертности, необходимости искусственной вентиляции легких или времени до улучшения клинического состояния, недостаточно, чтобы рекомендовать препарат к применению. Однако на данный момент условная рекомендация не использовать ремдесивир для стационарного лечения пересмотрена<sup>16</sup>. Лекарственные препараты, содержащие ремдесивир, уже зарегистрированы в нескольких странах. Поэтому были разработаны монографии на ремдесивир и ремдесивир для инфузионного введения, чтобы у государственных и прочих лабораторий по контролю качества была возможность проводить испытания и защищать пациентов от недоброкачественных и фальсифицированных препаратов. И действительно, в августе 2021 г. группа экспертов ВОЗ, занимающаяся случаями обнаружения недоброкачественных и фальсифицированных лекарственных средств, сообщила о выявлении фальсифицированного

ремдесивира в регионе ВОЗ, включающем страны Северной и Южной Америки<sup>17</sup>.

Проекты монографий на ремдесивир составлялись на основе информации, полученной у производителей и из открытых источников, дважды публиковались для обсуждения и были приняты на 55-м заседании Комитета экспертов по спецификациям для фармацевтических препаратов<sup>18</sup>.

**Молнупиравир** — пролекарство, являющееся производным нуклеозида β-D-N4-гидроксицитидина. Сообщалось, что молнупиравир сокращает риск госпитализации пациентов с COVID-19 легкой или средней степени тяжести. GDG выпустила условную рекомендацию применять молнупиравир для лечения пациентов с COVID-19 с самым высоким риском госпитализации, за исключением детей и беременных или кормящих женщин<sup>19</sup>. Молнупиравир в капсулах также был включен в 7-е EOI для производителей лекарственных средств против COVID-19. Подготовлены и доступны для открытого обсуждения проекты монографий на молнупиравир и молнупиравир в капсулах для включения в Международную фармакопею<sup>20</sup>.

Все фармакопеи уважают право производителей на интеллектуальную собственность и признают важность сохранения коммерческой тайны. Поэтому разработка монографий, как правило, не начинается до завершения периода исключительного присутствия оригинального лекарственного препарата на рынке, в течение которого не допускается регистрация воспроизведенных препаратов. Поскольку патенты выдаются в разных странах и регионах не централизованно, а в соответствии с действующим национальным или региональным патентным правом, общемировых патентов не существует. При этом разработка монографий для Международной фармакопеи может начинаться, как только официальные производители оригинального препарата или организации,

<sup>15</sup> WHO Solidarity Trial Consortium. Repurposed antiviral drugs for COVID-19 — interim WHO Solidarity trial results. *New Eng J Med*. 2021;384(6):497–511. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2023184>

<sup>16</sup> Therapeutics and COVID-19: Living guideline. Geneva; World Health Organisation. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-therapeutics-2022.1>

<sup>17</sup> Medical Product Alert No. 4/2021: Falsified remdesivir. Geneva, World Health Organisation. <https://www.who.int/news/item/13-08-2021-medical-product-alert-n-4-2021-falsified-remdesivir>

<sup>18</sup> WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: 55th report. Geneva: World Health Organisation; 2021. WHO Technical Report Series, No. 1033. <https://www.who.int/publications/i/item/55th-report-of-the-who-expert-committee-on-specifications-for-pharmaceutical-preparations>

<sup>19</sup> Therapeutics and COVID-19: Living guideline. Geneva; World Health Organisation. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-therapeutics-2022.1>

<sup>20</sup> Monographs and general texts under review/revision for inclusion in The International Pharmacopoeia. Geneva; World Health Organisation. <https://www.who.int/teams/health-product-and-policy-standards/standards-and-specifications/pharmaceuticals/working-documents-public-consultation>

сотрудничающие с ним и (или) действующие в соответствии с соглашением по торговым аспектам прав интеллектуальной собственности (Agreement on Trade-Related Aspects of Intellectual Property Rights, TRIPS), предоставят всю необходимую информацию. Именно поэтому ВОЗ смогла так быстро разработать монографии на ремдесивир и молнупиравир в рамках своих действий по борьбе с пандемией COVID-19.

**Медицинский кислород** — жизненно необходимое лекарственное средство, а при заболеваниях дыхательных путей, таких как COVID-19 и пневмония, часто единственное. Также он необходим при хирургических вмешательствах и при ведении пациентов с травмами. Кислород получают в промышленном производстве путем сжижения воздуха или, часто прямо в больнице, с помощью короткоцикловой (КЦА) или вакуумной короткоцикловой (ВКЦА) абсорбции. При КЦА/ВКЦА воздух пропускается над молекулярными ситами или другими материалами, которые поглощают некоторые его компоненты, в частности азот и углекислый газ, что приводит к повышению содержания кислорода.

Во время пандемии COVID-19 серьезный дефицит медицинского кислорода привел к огромному количеству смертей, которых можно было избежать. Особенно сложной была ситуация в странах с низким и средним уровнем дохода. Пересмотрев монографию на кислород, специалисты ВОЗ сгладили остроту проблемы и повысили доступность медицинского кислорода и равноправие в вопросе его распределения. В пересмотренной монографии уточняется, что оба варианта производства: и сжижение воздуха, и получение кислорода методами КЦА или ВКЦА — позволяют получить кислород, качество которого соответствует безопасному его использованию в медицинских целях. В монографии также положен конец дискуссии о возможности использования промышленного кислорода для терапии. Пациенты должны получать только медицинский кислород определенного качества, который прошел испытания, соответствует установленным спецификациям по подлинности, чистоте и составу и получен, хранится и распространяется в соответствии с надлежащими практиками. Степень чистоты и состав промышленного кислорода точно не определены, в нем могут присутствовать механические включения или микроорганизмы,

а планирование, выполнение и контроль производства, хранения и транспортировки могут не соответствовать надлежащим практикам, отражающим нужды здравоохранения. Следовательно, использование промышленного кислорода может подвергнуть пациентов недопустимому риску, и его не следует применять в медицине<sup>21</sup>.

Разные версии монографии на кислород многократно обсуждались коллективом собственных и приглашенных экспертов и дважды публиковались для комментирования. На сайте ВОЗ выложена промежуточная версия монографии<sup>22</sup>, которая в апреле 2022 г. рассматривалась на 56-м заседании ECSPP.

### Международные химические стандартные образцы

**Назначение международных химических стандартных образцов.** Международные химические стандартные образцы (International chemical reference substances, ICRS) — первичные стандартные образцы химических веществ для проведения анализа и количественного определения физико-химическими методами, описанными в Международной фармакопее или других документах, принятых ECSPP.

Сравнение с ICRS позволяет выпускать лекарственные средства в обращение или проверять на соответствие требованиям с помощью испытаний, описанных в Международной фармакопее. В частности, ICRS используют, чтобы установить подлинность фармацевтической субстанции или идентифицировать посторонние примеси, провести количественное определение фармацевтической субстанции или готового препарата, идентифицировать родственные примеси и установить их количество, проверить методы анализа на пригодность и откалибровать приборы. Эти стандартные образцы служат эталоном для сравнительного анализа, обеспечивают точность методов и приборов и позволяют сопоставлять результаты испытаний друг с другом.

ICRS создаются для использования в определенных целях, описанных в Международной фармакопее и инструкции по применению, которая выдается со стандартным образцом при его приобретении. Ответственность за оценку пригодности ICRS для иного применения несет пользователь или уполномоченное лицо, которое

<sup>21</sup> Oxygen. Geneva; World Health Organisation. [https://www.who.int/health-topics/oxygen#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/oxygen#tab=tab_1)

<sup>22</sup> Monographs and general texts under review/revision for inclusion in The International Pharmacopoeia. Geneva; World Health Organisation. <https://www.who.int/teams/health-product-and-policy-standards/standards-and-specifications/pharmaceuticals/working-documents-public-consultation>

предписало так использовать стандартный образец. Это распространяется, например, на ICRS в испытаниях и количественных определениях, не описанных в Международной фармакопее (в качестве примера можно привести валидацию альтернативных методик анализа).

С 2010 г. созданием, хранением и распространением ICRS занимается Европейский директорат по качеству лекарственных средств и здравоохранению (European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare, EDQM), а ECSPP отвечает за консультирование EDQM и утверждение образцов. На данный момент создано больше 250 первичных стандартных образцов. ICRS — надежная и недорогая альтернатива самостоятельной разработке стандартных образцов. Перечень недавно созданных ICRS:

- 1) ICRS левамизола гидрохлорида № 1 / Levamisole hydrochloride ICRS 1;
- 2) ICRS амодиахина гидрохлорида № 2 / Amodiaquine hydrochloride ICRS 2;
- 3) ICRS ципрофлоксацина гидрохлорида № 2 / Ciprofloxacin hydrochloride ICRS 2;
- 4) ICRS примеси А ципрофлоксацина № 1 / Ciprofloxacin impurity A ICRS 1;
- 5) ICRS альфа-артеметера № 2 / alpha-Artemether ICRS 2;
- 6) ICRS даклатавира № 1 / Daclatasvir dihydrochloride ICRS 1;
- 7) ICRS даклатавира для проверки пригодности системы № 1 / Daclatasvir for system suitability ICRS 1;
- 8) ICRS даклатавира для идентификации пиков № 1 / Daclatasvir for peak identification ICRS 1;
- 9) ICRS карбамазепина № 2 / Carbamazepine ICRS 2;
- 10) ICRS дексаметазона фосфата для количественного определения № 1 / Dexamethasone phosphate for assay ICRS 1.

**Производство и оценка международных химических стандартных образцов.** Создание, хранение и распространение ICRS выполняются в соответствии с актуальными нормами и рекомендациями, в число которых входят и общие рекомендации ВОЗ по разработке, хранению и распределению химических стандартных образцов<sup>23</sup>.

Как правило, материал, перспективный для создания ICRS, получают из серии лекарственного средства, качество которой соответствует требованиям обычного производства. Чтобы создать стандартный образец, изучают все

представляющие интерес показатели качества. Подтверждают подлинность, определяют чистоту, обычно ориентируясь на результаты, полученные с помощью методов, описанных в соответствующих фармакопейных монографиях. Для уточнения структуры и конфигурации ICRS применяют дополнительные техники анализа, если это необходимо (например, спектроскопию ЯМР, ВЭЖХ/МС, хиральную ВЭЖХ). Абсолютные методы (например, титриметрия, дифференциальная сканирующая калориметрия, количественная спектроскопия ЯМР) используют как дополнение и для подтверждения результатов, полученных относительными (в основном хроматографическими) методами. Объем испытаний и число привлекаемых лабораторий зависят от качества, предполагаемого назначения и чистоты предлагаемого материала для создания ICRS.

Если речь идет о стандартных образцах для использования в испытаниях количественными методами (и требуется указать состав), сумма всех компонентов (примесей и основного вещества) в процентах должна равняться 100 (принцип баланса масс). Содержание посторонних примесей (например, органических и неорганических примесей, воды и остаточных растворителей), которое выше заранее установленного порога, определяется в межлабораторных исследованиях (обычно участвует 5 лабораторий).

Состав, который в итоге будет установлен для ICRS, помимо чистоты предлагаемого материала, зависит от селективности хроматографической методики, для которой материал будет выступать стандартным образцом. Если предполагается, что материал будет использоваться в методике, характеризующейся такой же селективностью, как и методика определения чистоты материала, применим указанный состав ICRS. Если же разрешающая способность предлагаемой методики ниже, то нужно принять во внимание содержание примесей, которые невозможно отличить от исходного материала по отклику детектора, и внести в установленное значение поправку на эти примеси.

ICRS должны храниться, перевозиться и распространяться в условиях, которые обеспечат сохранение пригодности для использования по назначению. EDQM отслеживает стабильность ICRS путем регулярных проверок, частота и объем которых определяются по доступным данным о стабильности и назначении ICRS.

<sup>23</sup> WHO general guidelines for the establishment, maintenance and distribution of chemical reference substances. Geneva; World Health Organisation: 2007: Annex 3. WHO Technical Report Series, No. 943. <https://www.who.int/publications/m/item/who-general-guidelines-for-the-establishment-maintenance-and-distribution-of-chemical-reference-substances---trs-943---annex-3>



Материалы, пришедшие в негодность, заменяют. С актуальным списком ICRS можно ознакомиться в электронном каталоге<sup>24</sup>.

**Рациональное использование международных химических стандартных образцов.** Спецификации и методики испытаний Международной фармакопеи разрабатываются таким образом, чтобы желающие могли пользоваться ими во всех странах ВОЗ. Тем не менее в определенных регионах мира приобретение необходимых стандартных образцов может быть осложнено задержками поставок или ценами на перевозки. Международная фармакопея стремится сократить количество стандартных образцов, необходимое для проведения требуемых испытаний за счет, например:

- наработки образцов примесей для идентификации родственных/посторонних примесей на месте проведения испытания;
- предоставления международных стандартных ИК-спектров для испытаний на подлинность методом ИК-спектроскопии;
- определения количества примесей путем сравнения откликов детектора на эти примеси с откликом на исходное соединение в разбавленном растворе образца, а также установления поправочных коэффициентов, чтобы компенсировать различия в откликах на примеси и исходные соединения;
- предпочтительного использования абсолютных методов, таких как титрование и спектрофотометрия в ультрафиолетовой области, при которой для количественного определения фармацевтических субстанций используются значения поглощающей способности, поскольку для методов этого типа не требуется вещества сравнения.

Но эти стратегии применяются только в том случае, если при разработке монографии получено подтверждение, что предполагаемые меры не снизят качество результатов анализа и не ослабят способность методики однозначно подтверждать соответствие установленным требованиям.

## Сотрудничество с другими фармакопеями

То, что стандарты, описывающие качество важнейших лекарственных средств, не унифицированы, может затруднить обеспечение равного и всеобщего доступа к этим лекарственным средствам. Поэтому в 2012 г. ВОЗ созвала представителей фармакопей в Женеву на первое Международное совещание фармакопей мира (International Meeting of the World Pharmacopoeias, IMWP), которое было посвящено развитию сотрудничества и обсуждению вариантов для поддержки гармонизации фармакопейных стандартов. На данный момент проведено 12 заседаний и совместно разработаны следующие документы:

- Надлежащая фармакопейная практика ВОЗ, в которой описаны принципы планирования фармакопейных стандартов, их разработки и поддержания в актуальном состоянии, чтобы в конечном счете прийти к гармонизации<sup>25</sup>;
- «Белая книга» о ценности общедоступных стандартов для лекарственного обеспечения препаратами гарантированного качества<sup>26</sup>.

Также договорились о системе оповещения фармакопей, чтобы легче и быстрее обмениваться информацией в случае чрезвычайных ситуаций в области здравоохранения. Впервые ее задействовали в 2020 г. в период распространения COVID-19 для оперативной передачи друг другу информации о текущих действиях и поддержания системы здравоохранения в борьбе с пандемией. Результатами 10 встреч online в рамках системы оповещения фармакопей, которые прошли в 2020 и 2021 гг., стало:

- создание информационной панели на сайте ВОЗ/IMWP со списком монографий на исследуемые лекарственные средства для лечения от COVID-19 и кратким обзором актуальных монографий, имеющих в разных фармакопеях<sup>27</sup>;
- написание монографий IMWP на фавипиравир и фавипиравир в таблетках, которые были составлены представителями Японской фармакопеи при поддержке остальных фармакопей<sup>28</sup>.

<sup>24</sup> WHO International Chemical Reference Substances (ICRS): Purposes & Use. Strasbourg. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. <https://www.edqm.eu/en/WHO-ICRS-Reference-Substances-1393.html>

<sup>25</sup> WHO Good Pharmacopoeial Practices. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: 50th report. Geneva; World Health Organisation; 2016. Annex 1, WHO Technical Report Series 996. [https://www.who.int/medicines/publications/pharmprep/WHO\\_TRS\\_996\\_web.pdf](https://www.who.int/medicines/publications/pharmprep/WHO_TRS_996_web.pdf)

<sup>26</sup> White Paper for the WHO International Meeting of World Pharmacopoeias, Value of Pharmacopoeial Standards for Access to Quality Medicines. Geneva; World Health Organisation. [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/value-of-pharm-stds-updated-final-oct-2020.pdf?sfvrsn=2d4e5052\\_4](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/value-of-pharm-stds-updated-final-oct-2020.pdf?sfvrsn=2d4e5052_4)

<sup>27</sup> International Meetings of World Pharmacopoeias. Geneva; World Health Organisation. <https://www.who.int/teams/health-product-and-policy-standards/standards-and-specifications/norms-and-standards-for-pharmaceuticals/pharmacopoeia/IMWP>

<sup>28</sup> IMWP Monographs on Favipiravir and on Favipiravir tablets. Geneva; World Health Organisation. <https://www.who.int/publications/m/item/imwp-monographs-on-favipiravir-and-on-favipiravir-tablets>



Монографии на фавипиравир и фавипиравир в таблетках – первые из созданных IMWP монографий. Они не имеют обязательного характера и, предположительно, не станут обязательными к соблюдению. Однако при использовании на добровольной основе монографии IMWP могут служить инструментами анализа, например, в тех официальных контрольных лабораториях, которые заинтересованы в том, чтобы выявить фальсифицированные и недоброкачественные лекарственные средства.

### Заключение

Поскольку основным направлением работы в Международной фармакопее выбраны лекарственные средства, важные для стран с низким и средним уровнем дохода, она удачно допол-

няет другие фармакопеи, такие как Британская, Европейская, Японская и Фармакопея США, в которых больше внимания уделяется качеству лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций, зарегистрированных и применяемых в остальных странах. Международная фармакопея – поддержка и опора ряда программ ВОЗ, в том числе по преквалификации лекарственных средств, по развитию местного производства и техническому консультированию производителей и по работе со случаями обнаружения недоброкачественных и фальсифицированных лекарственных средств. Международная фармакопея способствует тому, чтобы все пациенты во всех странах получали эффективные, безопасные и качественные лекарственные препараты.

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: *Г. Шмидт* – подготовка и редактирование текста рукописи; *Ж. Сойер* – подготовка и редактирование текста рукописи; *К. Зриби* – написание и редактирование раздела о планах работы Международной фармакопеи; *Р. ван дер Верф* – написание и редактирование раздела о международных химических стандартных образцах.

**Благодарности.** Авторы выражают признательность д-ру Лютеру Гваза за проверку рукописи и полезные замечания по ее содержанию.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *H. Schmidt* drafted and revised the manuscript. *J. Sawyer* drafted and revised the manuscript. *K. Zribi* drafted and revised the section on the work plan of The International Pharmacopoeia. *R. van der Werf* drafted and revised the section on International Chemical Reference Substances.

**Acknowledgements.** The authors thank Dr Luther Gwaza for the review of the manuscript and his valuable comments thereon.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

### ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Герберт Шмидт, Ph. D.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7987-6384>  
[schmidth@who.int](mailto:schmidth@who.int)

Жаклин Сойер

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9037-2438>  
[sawyerj@who.int](mailto:sawyerj@who.int)

Каутер Зриби, Ph. D.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6045-0914>  
[kaouthar\\_z@yahoo.fr](mailto:kaouthar_z@yahoo.fr)

Реммельт ван дер Верф, Ph. D.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8619-5878>  
[remmelt.vanderwerf@edqm.eu](mailto:remmelt.vanderwerf@edqm.eu)

Поступила 11.03.2022

После доработки 16.05.2022

Принята к публикации 21.11.2022

Online first 10.04.2023

Herbert Schmidt, Ph. D.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7987-6384>  
[schmidth@who.int](mailto:schmidth@who.int)

Jacqueline Sawyer

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9037-2438>  
[sawyerj@who.int](mailto:sawyerj@who.int)

Kaouthar Zribi, Ph. D.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6045-0914>  
[kaouthar\\_z@yahoo.fr](mailto:kaouthar_z@yahoo.fr)

Remmelt van der Werf, Ph. D.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7987-6384>  
[remmelt.vanderwerf@edqm.eu](mailto:remmelt.vanderwerf@edqm.eu)

Received 11 March 2022

Revised 16 May 2022

Accepted 21 November 2022

Online first 10 April 2023



## **Институт фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств**

### **Форум Государственной фармакопеи – новая платформа взаимодействия с отраслью**

ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России информирует, что с 28.04.2023 начал работу Форум Государственной фармакопеи Российской Федерации ([www.pharmacopoeia.regmed.ru](http://www.pharmacopoeia.regmed.ru)).

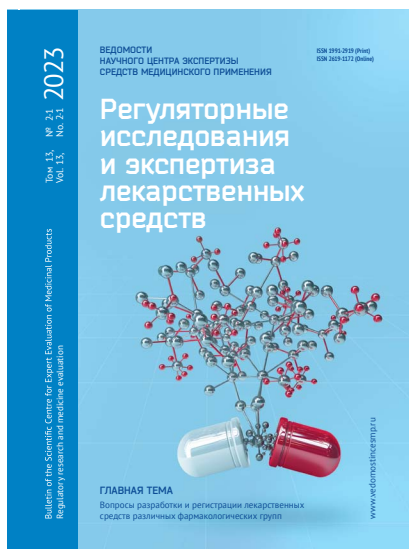
Форум является информационным ресурсом Института фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и предназначен для повышения открытости процесса разработки общих фармакопейных статей (ОФС) и фармакопейных статей (ФС) посредством:

- размещения актуальных электронных версий Государственной фармакопеи (в настоящее время на Форуме представлена полная версия Государственной фармакопеи XIV издания, по мере утверждения на Форуме будет размещено XV издание Государственной фармакопеи);
- сбора и учёта предложений по содержанию ОФС и ФС;
- информирования о порядке и ходе разработки ОФС и ФС;
- размещения информации о подразделениях ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и совещательных органах, участвующих в разработке ОФС и ФС;
- информирования об утверждении ОФС и ФС;
- размещения сведений о фармакопейных стандартных образцах Государственной фармакопеи Российской Федерации.

Для участия в обсуждении ОФС и ФС необходимо пройти процедуру регистрации на Форуме.

Направление предложений, комментариев и замечаний к ОФС и ФС доступно посредством размещения комментариев в нижней части страницы соответствующей ОФС и ФС.

ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России приветствует активное участие представителей фармацевтической отрасли в разработке фармакопейных требований и призывает активно вовлекаться в данную работу. Любые предложения и комментарии по работе Форума просим направлять на следующий адрес электронной почты: [pharmacopoeia@expmed.ru](mailto:pharmacopoeia@expmed.ru).



## Уважаемые читатели!

В июле 2023 года выйдет внеочередной (дополнительный) номер журнала «Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» № 2-1 (2023). В номере будут опубликованы статьи, касающиеся вопросов разработки и регистрации лекарственных средств различных фармакологических групп: инновационных препаратов генной терапии, антибактериальных препаратов, инсулинов, препаратов магния, а также систем доставки лекарственных средств.

## Читайте в следующем выпуске:

### **Особенности регулирования разработки препаратов, полученных с помощью технологии редактирования генома**

*Н.С. Покровский, М.А. Водякова, Е.В. Мельникова, В.А. Меркулов*

### **Липосомы как носители лекарственных средств: применение, классификация и методы получения (обзор)**

*Н.И. Бурдаев, Л.Л. Николаева, В.В. Косенко, Э.С. Шпрах, Н.Д. Бунятян*

### **Применение ионно-парной хроматографии для определения компонентов и родственных примесей капреомицина сульфата**

*И.Ю. Якупов, С.И. Кулешова, Е.П. Симонова, А.С. Демидов*

### **Определение биологической активности инсулина и его аналогов на животных**

*П.В. Шадрин, Л.В. Симутенко, Т.А. Батуашвили, Н.П. Неугодова, Е.О. Чечетова*

### **Фармакокинетические исследования (исследования биодоступности) препаратов магния**

*Н.Н. Еременко, Е.В. Ших, Н.Е. Уварова*

Эти и другие материалы вы найдете в печатном выпуске № 2-1 (2023) журнала «Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств», а также на сайте <https://www.vedomostincsesmp.ru>

Ведомости Научного центра экспертизы  
средств медицинского применения

## **Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств**



9 771991 291005