

УДК 615.07:615.32

Хохлова К.О., Вишневська Л.І., Котов А.Г., Кічимасова Я.С.

Національний фармацевтичний університет

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Стандартизація трави сухоцвіту багнового згідно вимог Державної Фармакопеї України

Визначено наявність сировинної бази трави сухоцвіту багнового на території України, широкий спектр фармакологічної дії цієї рослини і використання в народній медицині, що свідчить про актуальність фармакопейної стандартизації цієї сировини. Вивчено світовий досвід стандартизації трави с. багнового та проведено експериментальні дослідження на відповідність дослідних зразків трави с. багнового вимогам статті Державної Фармакопеї ЄСР XI вид. «Трава сушениці топяної». Адаптовано ідентифікацію за макро- і мікроскопічними ознаками трави с. багнового. Проаналізовано і узагальнено дані літературних джерел щодо хімічного складу рослини й обрано речовини-маркери для її стандартизації. Розроблено методику ідентифікації речовин флавоноїдної природи з використанням тонкошарової хроматографії, проведено валідацію методики, виконано необхідні випробування і кількісне визначення, а також розроблено методику визначення екстрактивних речовин. Результати проведених досліджень можуть бути використані при підготовці проекту національної монографії «Сухоцвіту багнового трава» для включення у Державну Фармакопею України.

Ключові слова: сухоцвіту багнового трава, стандартизація, Фармакопея.

Використання стандартизованої вихідної лікарської рослинної сировини (ЛРС) є однією з головних вимог для отримання лікарських засобів (ЛЗ) рослинного походження належної якості. Документом, що регламентує якість ЛРС в Україні, є монографія Державної Фармакопеї України (ДФУ) [5-7, 10-11]. Тому важливим питанням забезпечення населення України якісними, безпечними та ефективними ЛЗ рослинного походження є введення монографій на ЛРС у ДФУ.

Сухоцвіт багновий (*Gnaphalium uliginosum* L.) — однорічна трав'яниста рослина з род. айстрових (*Asteraceae*); рос. назва: сушеница топяная; син.: сухоцвіт болотний; народна назва: сухоцвітки, жаб'яча трава. Рослина сірувато-зеленого кольору, сіра або білувата через нерівноклочкуватощерстисте опушення. Зустрічається майже по всій території України, але на сході та півдні — рідко. У великих кількостях зростає у низькогір'ї Карпат, Закарпатті, Прикарпатті, Розточчі-Опіллі, а також у басейні р. Дніпро на вологих річкових пісках і в пониженнях других терас, рідше — у басейні р. Сіверський Донець. Зростає на вологих, болотистих місцях, по берегах річок, рівчаків, вологих луках, узбіччях доріг, схилах з підтіканням ґрунтових вод, рідше — як бур'ян на полях і городах. Запаси сировини великі. Щорічно можна заготовляти десятки тонн трави. Промислову заготовку можна проводити в Закарпатській, Львівській, Івано-Франківській, Чернівецькій, Тернопільській, Волинській, Рівненській, Житомирській, Київській, Чернігівській, Сумській, Харківській та інших областях [15].

З лікувальною метою використовують траву с. багнового, заготовлену у період цвітіння рос-

лини. Для відновлення заростей на ділянці, де заготовляють сировину, треба залишати на 1 м² по 2-4 рослини. Обтрушують ґрунт із рослин, вирваних із коренем, і сушать їх на сонці або під укриттям, якщо погодні умови несприятливі. Штучне сушіння проводять при температурі не вище 40 °С. Вихід сухої трави — 25-30 %. Готову сировину запаковують у полотняні мішки і зберігають на стелажах у сухому провітрюваному приміщенні. Термін придатності — 3 роки. Трава сухоцвіту є у продажу в аптеках.

Трава сухоцвіту виявляє гіпотензивну дію, переважно за рахунок розширення периферичних судин (гнафалозиди, терпеноїди); седативну дію, що у кілька разів сильніша, ніж у валеріани (флавоноїди, терпеноїди, невідомі сполуки); полівітамінну, протимікробну (флавоноїди, крезоли, таніни, терпеноїди), протизапальну та репаративну дії (ті самі чинники, ескуліноподібні сполуки, невідомі сполуки); в'язучу (таніни), кардіотонічну (гнафалозиди) дії. У медицині сухоцвіт застосовують у кардіології при гіпертензіях, ефект досягається завдяки седативному впливу та розширенню периферичних судин. Також сухоцвіт використовують при облітеруючому ендартеріїті (початкова стадія), вегетосудинних дистоніях. Під впливом настоїв сповільнюється ритм серця, збільшується хвилинний об'єм, зменшується або зникає серцевий біль. Рослина показана при стенокардії, атеросклерозі, кардіоневрозах, безсонні, серцебитті, загальному збудженні [12].

Крім того, олійні екстракти сухоцвіту посилюють репаративні процеси в тканинах. Настій сухоцвіту є ефективним засобом для лікування виразкової хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки (зникають болі, покращується загальне

самопочуття, хворі набирають вагу). У гомеопатії есенцію застосовують при нейроциркуляторній дистонії, виразковій хворобі шлунка. У народній медицині — при серцевій недостатності, гепатиті, нирковокам'яній хворобі, цукровому діабеті, тонзиліті, ангіні, туберкульозі легень, злоякісних пухлинах, алергіях, паралічі, асциті, дерматомікозах; зовнішньо (мазь на льняній олії) — при опіках. У практичній медицині — при тромбофлебитах, флеботромбозах, ендартеріїтах; відвар, екстракт — при ерозії шийки матки; у стоматології олійний екстракт — при афтозному, виразковому, ерозійному стоматиті, хімічних опіках ротової порожнини і пародонтозах, припарки — у дерматології і косметичі; у зборах — як спазмолітичний, гемостатичний, в'язучий засіб, що регулює моторну функцію шлунка і дванадцятипалої кишки, при бактеріальній і амебній дизентерії, геморої, бешихових запаленнях; інгаляції — при хронічному гаймориті [12, 15].

На цей момент у ДФУ відсутня монографія на рослину сировину сухоцвіту багнового, також відсутня така монографія і в Європейській фармакопеї (ЄФ). Якість трави с. багнового регламентує Державна Фармакопея СРСР (ГФ) XI вид. [4]. Статті на цю сировину наявні також у ГФ X і IX вид. [2, 3].

Широкий спектр фармакологічної дії трави с. багнового, а також наявність ЛЗ на основі цієї

сировини на фармацевтичному ринку України свідчать про актуальність стандартизації трави с. багнового.

Метою цієї роботи є стандартизація трави с. багнового. Дослідні зразки сировини заготовляли у період цвітіння у Закарпатській (с. 130012), Харківській, Волинській, Сумській, Вінницькій (с. 109512) областях і у Криму; усього в роботі використані 7 зразків 2010-2012 рр. заготівлі.

При проведенні експериментальних робіт використовували фізичні та фізико-хімічні методи дослідження, методи фармакогнозії [1, 5-7]. Для дослідження використовували стандартні зразки (СЗ) належної якості: рутин, гіперозид, вітексин (ФСЗ ДФУ), хлорогенову кислоту (Acros Organics); пластинки для тонкошарової хроматографії (ТШХ) і високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ) (Merck і Macherey-Nagel, Німеччина). Всі реактиви готували відповідно до вимог ДФУ і використовували свіжоприготованими.

Стандартизацію трави с. багнового проводили, беручи за основу підхід ЄФ/ДФУ [9-11], а також враховуючи загальний формат і стиль монографій на ЛРС у ДФУ і комплексне вивчення вимог статті «Трава сушениці топяной» ГФ XI, X і IX видань. Проведено дослідження основних показників якості трави с. багнового на відповідність вимогам ГФ XI, враховуючи національні особливості культивування сировини.

Таблиця 1

Результати досліджень діагностичних мікроскопічних ознак сухоцвіту багнового трави відповідно до ГФ XI

Вимоги ГФ XI	Результати аналізу (для зразків 1-7)
Верхня епідерма листків (вигляд зверху) із паренхімних клітин зі слабо звивистими оболонками.	Відповідає.
Нижня епідерма листків із паренхімних клітин з більш звивистими оболонками.	Відповідає.
Великі, овальні, занурені продири, з 4-5 біляпродиховими клітинами; тип продирихового апарату — аномоцитний, зустрічається зрідка на фрагментах верхньої і часто на фрагментах нижньої епідерми листка.	Відповідає.
Чисельні покривні волоски, складаються з (1-3) базальних клітин і довгої тонкостінної звивистої апікальної клітини.	Волоски покривні, дуже довгі, сплутані між собою; складаються з (1-3) базальних видовжених клітин і довгої тонкостінної звивистої апікальної клітини. Не відповідає.
Зустрічаються голівчасті волоски з одноклітинною ніжкою і багатоклітинною видовжено-овальною голівкою; клітини голівки розташовані в один або два ряди.	Зустрічаються голівчасті волоски з (2-3)-клітинною ніжкою і багатоклітинною видовжено-овальною невеликою голівкою.
Не описано.	Зустрічаються великі клітини (1-2)-шарової кутової колєнхіми; клітини корової парєнхіми з великими міжклітинниками. Зустрічаються широко- та вузько- просвітні спіральні і пористі судини; ділянки склерєнхіми. Зустрічаються великі зірчасті друзи.

Макроскопія. У статті ГФ XI «Трава сушениці топяной» наведено детальний морфологічний опис стебла (забарвлення, форма, опушення), коренів, листка (розташування, форма верхівки, центральна жилка тощо) та суцвіття (тип, розмір, розташування тощо), обгортки (форма, забарвлення листочків, опушення тощо), квіток (тип, розмір, забарвлення тощо), плодів (тип).

Порівняльний аналіз визначення і морфологічної будови досліджуваних зразків трави с. багнового показав їх відповідність за усіма ознаками статті ГФ XI. Стаття на сухоцвіт багновий з ГФ X і ГФ IX описує можливі домішки інших рослин: с. лісовий (*Gnaphalium sylvaticum* L.) і жабник польовий (*Filago arvensis* L.). У цих фармакопеях наведено макро- і мікроскопічні ознаки, які дають змогу відрізнити домішки від с. багнового [2, 3].

Мікроскопія. Мікроскопічний аналіз зразків трави с. багнового виявив їх відповідність статті ГФ XI «Трава сушениці топяной». Вивчали анатомічну будову листка с. багнового. Також нами було визначено діагностичні ознаки стебла с. багнового, які не описані у ГФ XI. Результати аналізу мікроскопічних ознак трави с. багнового на відповідність статті ГФ XI «Трава сушениці топяной» наведено у Табл. 1.

З метою гармонізації вимог до проведення мікроскопічного аналізу до вимог ДФУ проводили випробування досліджуваних зразків трави с. багнового на подрібненій на порошок сировині. Переглядали порошок під мікроскопом, використовуючи *хлоральгідрату розчин Р*. У порошок виявилися всі основні діагностичні ознаки, що були виявлені під час роботи зі зразками сировини.

Ідентифікація якісного складу. Вивчення фітохімічного складу с. багнового проводили ряд дослідників [8, 13-17]. За даними літератури трава с. багнового містить флавоноїди: похідні флавонолу (кверцетину, кемпферолу, рамнетину, ізорамнетину) і флавону (лютеоліну, апігеніну, скутелареїну, специфічні флавоногнафалозиди А і В), кумарини, каротиноїди, дитерпенові дикарбонові кислоти, вітаміни та ін. [15].

Оскільки для ЄФ і ДФУ, на відміну від ГФ XI, метод ТШХ при розробці монографій на ЛРС є майже обов'язковим [10, 11], для стандартизації трави с. багнового необхідно було розробити методику ідентифікації з використанням методу ТШХ. Як клас біологічно активних речовин для ідентифікації с. багнового нами було обрано речовини флавоноїдної природи (похідні флавонолу і флавону), які є характерними для трави цієї рослини [13, 17]. Речовини флавоноїдної природи відповідають за гіпотен-

зивну, антиоксидантну і протизапальну дію досліджуваної сировини [15].

Розробка та валідація методу ідентифікації речовин флавоноїдної природи трави сухоцвіту багнового

Розробку методики ідентифікації за допомогою ТШХ і вивчення її валідаційних характеристик проводили одночасно. При розробці методики проводили вибір стаціонарної і рухомої фаз, підбирали оптимальну пробопідготовку, вибирали спосіб детектування, процес нанесення зразка та ін. Вивчали валідаційні параметри: специфічність і робастність.

Стаціонарна фаза. Як стаціонарну фазу використовували ТШХ пластинки з силікагелем у якості сорбенту. Визначали вплив ТШХ пластинок різного виробництва: «Alugram» Sil G/UV₂₅₄ (Macherey-Nagel, Німеччина) і Silica Gel 60 F₂₅₄ (Merck, Німеччина), на хроматографічний профіль досліджуваних зразків с. багнового та на коливання значень R_f , що виявляються на рівні зон розчину порівняння (Рис. 1, 2).

Рухома фаза. Застосовували рухому фазу, яка широко використовується для аналізу речовин флавоноїдної природи [18, 20]: *етилацетат Р - оцтова кислота Р - мурашина кислота безводна Р - вода Р* (100:11:11:27).

Пробопідготовка. Порівнювали результати хроматографування, використовуючи як випробовуваний розчин 0.1 % етанольний витяг (50 %, об/об) с. багнового (ВР1), і випробовуваний розчин с. багнового, отриманий за пробопідготовкою, яка наведена нижче (ВР2) (Рис. 3).

Випробовуваний розчин ВР2. До 2.0 г здрібненої на порошок сировини додають 20 мл *етанолу* (50 %, об/об) *Р*, нагрівають на водяній бані при температурі 65 °С зі зворотним холодильником або в ультразвуковій бані при кімнатній температурі протягом 15 хв, охолоджують і фільтрують. 10.0 мл фільтрату поміщають у діляльну ліжку місткістю 50 мл, додають 10 мл *хлороформу Р* й екстрагують протягом 1 хв. Після повного поділу шарів *хлороформний витяг* відкидають. У діляльну ліжку додають 15 мл *етилацетату Р* і екстрагують протягом 1 хв. Після поділу шарів нижній (водний) шар відокремлюють і видаляють. Верхній шар переносять у колбу, упарюють на водяній бані і відганяють *етилацетат* під вакуумом при залишковому тиску 12-16 кПа. До залишку додають 1 мл *метанолу Р* і перемішують.

Хроматографування. Хроматографування проводили відповідно до ДФУ «2.2.27. Тонкошарова хроматографія» [5].

Нанесення зразка. У ході роботи порівнювали результати, отримані при нанесенні ВР1 у кількості 25 мкл і ВР2 у кількості 5 мкл, 10 мкл, 15 мкл і 20 мкл; плями наносили за допомогою мікрошприца, смугами 10 мм × 2 мм; відстань між смугами — 0.5 см. Встановлено, що оптимальний об'єм нанесення складає 15 мкл для випробовуваного розчину, 10 мкл для розчину порівняння (Рис. 1).

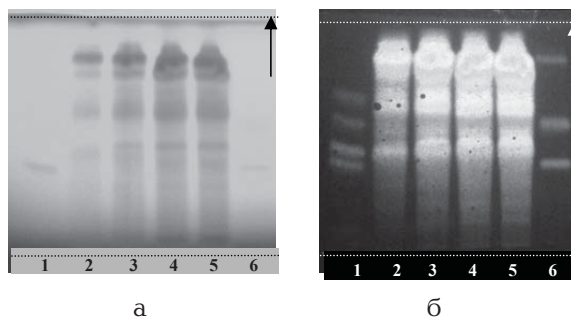
Відстань для хроматографування. Порівнювали вплив відстані, що має пройти рухома фаза: (8-8.5) см і 12 см. Результати наведено на Рис. 2. Аналіз Рис. 2 дозволяє стверджувати, що для розділення сполук достатньо відстані для хроматографування (8-8.5) см. Це дозволяє при проведенні дослідження більш раціонально використовувати ТШХ пластинки, зменшує необхідну кількість органічних розчинників для рухомої фази і проблему утилізації їх залишків, дозволяє скоротити час проведення аналізу, зменшує необхідну кількість реактивів-проявників, отже, дозволяє оптимізувати економічні затрати.

Специфічність. У якості розчину порівняння нами було обрано суміш СЗ рутину і гіперозиду (1.0 мг кофейної кислоти Р, 2.5 мг гіперозиду і 2.5 мг рутину у 10 мл метанолу Р). Також при проведенні експерименту використовували суміш СЗ хлорогенової кислоти, гіперозиду, рутину і вітексину (1 мг хлорогенової кислоти, 2.5 мг гіперозиду і 2.5 мг рутину, 2.5 мг вітексину у 10 мл метанолу Р).

Детектування. Спочатку пластинку переглядали в УФ-світлі при 254 нм для з'ясування особливостей хроматографічного профілю та виявлення речовин, що поглинають. Потім гарячу пластинку обприскували реактивами-проявниками, специфічними для виявлення фенольних сполук, зокрема фенілпропаноїдів та дифенілпропаноїдів: розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р у метанолі Р, потім розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р, сушили на повітрі протягом 30 хв і переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі розчину порівняння у середній частині мають виявлятися три зони, у порядку зростання R_f: зона жовтаво-оранжевої флуоресценції (рутин), зона жовтаво-оранжевої флуоресценції (гіперозид), у верхній частині: зона блакитної флуоресценції (кофейна кислота). На хроматограмі випробовуваного розчину вище зони, що відповідає рутину на хроматограмі розчину порівняння, має виявлятися слабка жовтаво-оранжева зона, вище неї інтенсивна блакитна флуоресціююча зона

Рисунок 1



Ідентифікація речовин флавоноїдної природи трави сухоцвіту багнового. Вибір об'єму аликвоти

Примітки:

ТШХ пластинка — Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck);

Відстань для хроматографування — 8.5 см;

а — УФ-254 нм, до проявлення;

б — УФ-365 нм, після проявлення;

1 — розчин порівняння (рутин, хлорогенова кислота, гіперозид, вітексин, знизу вгору);

2 — випробовуваний розчин с. багнового, 5 мкл;

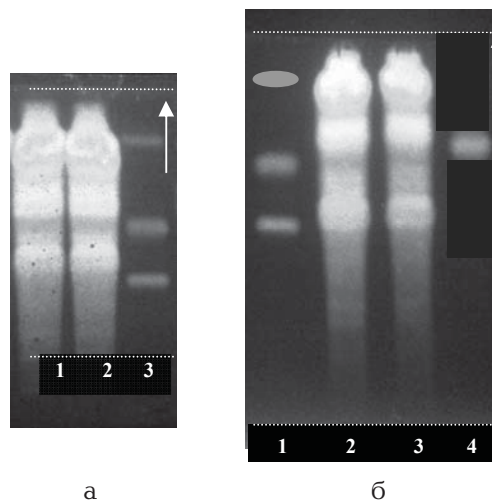
3 — випробовуваний розчин с. багнового, 10 мкл;

4 — випробовуваний розчин с. багнового, 15 мкл;

5 — випробовуваний розчин с. багнового, 20 мкл;

6 — розчин порівняння (рутин, гіперозид, кофейна кислота, знизу вгору), 10 мкл.

Рисунок 2



Вплив відстані, що має пройти рухома фаза (перегляд в УФ-світлі при 365 нм)

Примітки:

а — 8.5 см;

б — 12 см;

1, а — випробовуваний розчин с. багнового, зразок № 6, 15 мкл;

2, а — випробовуваний розчин с. багнового, зразок № 6, 20 мкл;

3, а — розчин порівняння (рутин, гіперозид, кофейна кислота, знизу вгору), 10 мкл;

1, б — розчин порівняння (рутин, гіперозид, кофейна кислота, знизу вгору), 10 мкл;

2, б — випробовуваний розчин с. багнового, зразок № 6, 20 мкл;

3, б — випробовуваний розчин с. багнового, зразок № 6, 15 мкл;

4, б — розчин порівняння ізокверцитрину, 10 мкл.

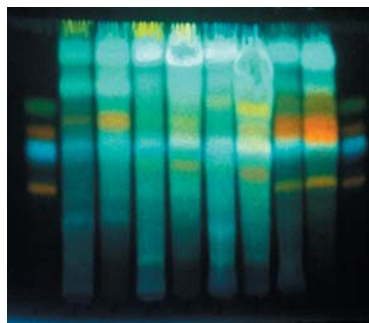
(хлорогенова кислота), дещо нижче і дещо вище зони, що відповідає гіперозиду на хроматограмі розчину порівняння, мають виявлятися 1 або 2 жовтаво-оранжеві зони. У верхній частині хроматограми випробовуваного розчину на рівні зони, що відповідає кофейній кислоті на хроматограмі розчину порівняння, має виявлятися інтенсивна блакитна флуоресціююча зона, нижче неї мають виявлятися жовтаво-оранжева зона і блакитна флуоресціююча зона. Крім того, на хроматограмі випробовуваного розчину також можуть виявлятися інші зони.

Достовірність визначення домішок. Вивчали можливість визначення недопустимої домішки жабника польового на одній хроматографічній пластинці в умовах методики. Для цього на одну хроматографічну пластинку паралельно з ВР1 і ВР2 наносили випробовувані розчини можливої недопустимої домішки с. багнового — жабника польового. Випробовувані розчини ж. польового були приготовані аналогічно ВР1 і ВР2. Описували отримані результати хроматографування за відношенням до обраних СЗ: колір, інтенсивність забарвлення, розташування на пластинці. Результати наведено на Рис. 3.

Як свідчить аналіз одержаних хроматограм (Рис. 3), досліджувані зразки трави с. багнового виявляють близький хроматографічний профіль речовин флавоноїдної природи за відношенням до обраних СЗ, що підтверджує специфічність визначення. В умовах методики до-

сити складно виявити недопустиму домішку с. багнового — жабник польовий, оскільки хроматографічні профілі ж. польового (зразок № 3) і с. багнового (зразки № 5, № 7) дуже близькі. Проте, смуга жовтого кольору, що виявляється

Рисунок 3



Ідентифікація речовин флавоноїдної природи сухоцвіту багнового трави і домішки жабника польового

Примітки:

ТШХ-пластинка — «Alugram» Sil G/UV₂₅₄ (Macherey-Nagel);

Відстань для хроматографування — 8.5 см;

Перегляд — в УФ-світлі при 365 нм;

1 — розчин порівняння (рутин, хлорогенова кислота, гіперозид, вітексин, знизу вверху);

2 — етанольний витяг ж. польового;

3 — випробовуваний розчин ж. польового;

4 — етанольний витяг с. багнового, зразок № 1;

5 — випробовуваний розчин с. багнового, зразок № 1;

6 — етанольний витяг с. багнового, зразок № 6;

7 — випробовуваний розчин с. багнового, зразок № 7.

Таблиця 2

Результати аналізу сухоцвіту багнового трави відповідно до статті ГФ ХІ «Трава сушениці топяной»

Показник	Нормування	Зразок трави сухоцвіту багнового						
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7
Органічні домішки, %	Не більше 2	1.4±0.26	1.4±0.11	0.8±0.07	0.5±0.07	—	1.5±0.07	0.7±0.01
		+	+	+	+	+	+	+
Мінеральні домішки, %	Не більше 2	—	—	—	—	0.5±0.01	—	—
		+	+	+	+	+	+	+
Втрата в масі при висушуванні, %	Не більше 12.0	7.7±0.23	6.4±0.26	6.5±0.14	7.0±0.31	7.0±0.27	6.9±0.13	6.0±0.14
		+	+	+	+	+	+	+
Загальна зола, %	Не більше 20.0	16.7±0.5	17.3±0.35	10.0±0.48	15.0±0.3	16.3±0.07	16.4±0.04	18.4±0.11
		+	+	+	+	+	+	+
Зола, нерозчинна у 10 % розчині НСІ, %	Не більше 10.0	3.73±0.08	5.1±0.02	3.63±0.34	2.7±0.18	3.41±0.22	3.2±0.02	6.6±0.27
		+	+	+	+	+	+	+
Кількісне визначення	Не менше 0.2 % суми флавоноїдів у перерах. на гнафалозид А (СФ)	0.35±0.02	0.4±0.01	0.45±0.02	0.42±0.01	0.43±0.01	0.48±0.01	0.31±0.02
		+	+	+	+	+	+	+

Примітка. «+» — відповідає вимогам; «-» — домішку не виявлено.

на хроматограмах розчинів с. багнового нижче смуги хлорогенової кислоти на хроматограмі розчину порівняння, є характерною. Для більш впевненої ідентифікації домішка ж. польового має бути встановлена на стадії макроскопічного аналізу сировини.

Робасність. Як видно з Рис. 1-3, при застосуванні обраної рухомої фази на усіх використовуваних ТШХ пластинках виявлено збіжні результати хроматографічного профілю досліджуваних зразків трави с. багнового відносно обраних СЗ (значення R_f , послідовність розташування, розмір, інтенсивність забарвлення тощо).

Випробування і кількісне визначення. Визначення втрати в масі при висушуванні, загальної золи, золи, нерозчинної у 10 % розчині кислоти хлористоводневої, сторонніх домішок і кількісне визначення зразків трави с. багнового проводили відповідно до статті ГФ XI «Трава сушениці топяної». Результати аналізу наведені у Табл. 2.

За показниками «Органічні домішки», «Мінеральні домішки», «Втрата в масі при висушуванні», «Загальна зола», «Зола, нерозчинна у 10 % розчині кислоти хлористоводневої» і «Кількісне визначення» усі зразки трави с. багнового відповідають вимогам статті ГФ XI «Трава сушениці топяної».

Наведена у ГФ XI методика кількісного визначення суми флавоноїдів у перерахунку на гнафалозид А є недостовірною. Як показали описані вище дослідження, сировина містить не лише похідні метильованих флавоноїдів, а й цілу низку фенольних сполук, які неможливо оцінити за спектром поглинання стандартного зразка гнафалозиду. Тому для контролю кількісних показників с. багнового нами запропоновано проводити визначення суми речовин, що екстрагуються водою. Методика визначення екстрактивних речовин розроблена з урахуванням показання до застосування трави с. багнового (настій) і методик визначення, наведених в монографіях ЄФ на ЛРС [19]. Методика наведена нижче.

Речовини, що екстрагуються водою: не менше 10 %. До 4.0 г подрібненої на порошок сировини додають 100 мл гарячої води Р. Настояють протягом 15 хв, періодично перемішуючи, охолоджують. Фільтрують, доводять водою Р до 100 мл. 10 мл одержаного фільтрату упарюють на водяній бані насухо та сушать при температурі від 100 °С до 105 °С до постійної маси.

Результати визначення речовин, що екстрагуються водою, у зразках трави с. багнового наведено у Табл. 3.

Таблиця 3

Вміст екстрактивних речовин у траві сухоцвіту багнового

№ зразка	Вміст екстрактивних речовин, %	Нормування – не менше 10 %
1	12.88 ± 0.07	<i>Vignovigae</i>
2	15.85 ± 0.02	<i>Vignovigae</i>
3	10.41 ± 0.06	<i>Vignovigae</i>
4	14.03 ± 0.09	<i>Vignovigae</i>
5	13.99 ± 0.06	<i>Vignovigae</i>
6	12.67 ± 0.05	<i>Vignovigae</i>
7	16.45 ± 0.02	<i>Vignovigae</i>

Висновки

1. Визначено наявність на території України сировинної бази трави сухоцвіту багнового (*Gnaphalium uliginosum* L.).

2. Проведено стандартизацію трави с. багнового згідно вимог ДФУ, що включає:

— експериментальні дослідження на відповідність дослідних зразків трави с. багнового вимогам статті ГФ XI «Трава сушениці топяної»;

— адаптацію ідентифікації за макро- і мікроскопічними ознаками трави с. багнового, визначення втрати в масі при висушуванні сировини, вмісту загальної золи і золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті, сторонніх домішок і кількісного вмісту у перерахунку на гнафалозид;

— розробку методики ідентифікації речовин фенольної природи методом ТШХ і проведення валідації цієї методики, а також розробку методики визначення екстрактивних речовин.

3. Результати проведених досліджень будуть використані при підготовці проекту національної монографії ДФУ «Сухоцвіту багнового трава».

ЛІТЕРАТУРА

- Атлас з анатомії рослин (рослинна клітина, тканини, органи): навч. посіб. для студентів вищих навчальних закладів / А.Г. Сербін, Л.С. Карамазова, В.П. Руденко, Т.М. Гонтова. — Х.: Колорит, 2006. — 86 с.
- Трава сушениці топяної // Государственная фармакопея СССР / МЗ СССР. — IX изд. — М.: Медгиз, 1961. — С. 239.
- Трава сушениці топяної // Государственная фармакопея СССР / МЗ СССР. — X изд. — М.: Медицина, 1968. — С. 345-346.
- Трава сушениці топяної // Государственная фармакопея СССР / МЗ СССР. — 11-е изд., вып. 2. доп. — М.: Медицина, 1990. — С. 320-323.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості

- лікарських засобів». — 1-е вид. — Доповнення 3. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2009. — 280 с.
7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 1-е вид. — Доповнення 4. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2011. — 540 с.
8. Коноплева М.М. Исследование биологически активных соединений сушеницы топяной и разработка метода стандартизации лекарственного растительного сырья: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. фармац. наук: спец. 15.00.02 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» / М.М. Коноплева. — М., 1980. — 19 с.
9. Котов А.Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослину сировину до Державної Фармакопеї України / А.Г. Котов // Фармаком. — 2009. — № 1. — С. 5-19.
10. Котов А.Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослину сировину. Ч. 1 / А.Г. Котов // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. — 2011. — № 6 (20). — С. 16—22.
11. Котов А.Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослину сировину. Ч. 2 / А.Г. Котов // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. — 2012. — № 1 (21). — С. 4-10.
12. Лікарські рослини: енциклопедичний довідник / за ред. А.М. Гродзинського. — К.: Голов. ред. УРЕ, 1990. — 544 с.
13. Новый ацилированный флавоновый гликозид из *Gnaphalium uliginosum* / М.М. Коноплева, Л.П. Смирнова, В.И. Глызин и др. // Химия природных соединений. — 1979. — № 3. — С. 311-315.
14. Николашкин А.Н. Разработка показателей качества травы сушеницы топяной / А.Н. Николашкин, О.Г. Потанина, Д.М. Попов и др. // Фармация. — 2010. — № 4. — С. 19-21.
15. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейство Asteraceae (Compositae). — СПб.: Наука, 1993. — Т. 7. — 352 с.
16. Николашкин А.Н. Совершенствование стандартизации травы сушеницы топяной / А.Н. Николашкин, О.Г. Потанина, Д.М. Попов и др. // Фармация. — 2010. — № 2. — С. 12-14.
17. Коноплева М.М. Содержание флавоноидов в сушенице топяной / М.М. Коноплева, Л.П. Смирнова, В.И. Глызин и др. // Хим.-фарм. журн. — 1981. — Т. 15, № 2. — С. 72-76.
18. Хохлова К.О. Застосування тонкошарової хроматографії для ідентифікації кардіологічного фітозасобу / К.О. Хохлова, Л.І. Вишнеvsька // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. — 2012. — Вип. 21, Кн. 4. — С. 479-485.
19. European Pharmacopoeia. — 6th ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2007. — 3261 p.
20. HPTLC identification of Red Clover (*Trifolium pratense* L.) F-22B [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.camag.com/en/tlc_hptlc/camag_laboratory/methods.cfm.

УДК 615.07:615.32

Резюме

Хохлова Е.А., Вишневская Л.И., Котов А.Г., Кичимасова Я.С. Национальный фармацевтический университет Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Стандартизация травы сушеницы топяной в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Украины

Определены наличие сырьевой базы травы сушеницы топяной на территории Украины, широкий спектр фармакологического действия данного растения и использование в народной медицине, что свидетельствует об акту-

альности фармакопейной стандартизации данного сырья. Изучен мировой опыт стандартизации травы с. топяной и проведены экспериментальные исследования на соответствие опытных образцов травы с. топяной требованиям статьи Государственной Фармакопеи СССР XI изд. «Трава сушеницы топяной». Адаптирована идентификация по макро- и микроскопическим признакам травы с. топяной. Проанализированы и обобщены данные литературных источников о химическом составе растения и выбраны вещества-маркеры для его стандартизации. Разработана методика идентификации веществ флавоноидной природы с использованием тонкослойной хроматографии, проведена валидация методики, выполнены необходимые тесты и количественное определение, а также разработана методика определения экстрактивных веществ. Результаты проведенных исследований могут быть использованы при подготовке проекта национальной монографии «Сушеница топяной трава» для включения в Государственную Фармакопею Украины.

Ключевые слова: сушеницы топяной трава, стандартизация, Фармакопея.

UDC 615.07:615.32

Khokhlova K.O., Vyshnevskaya L.I., Kotov A.G., Kichimasova Ya.S. National University of Pharmacy State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines»

Low cudweed grass standardization according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine

This work was devoted to pharmacopoeial standardization of herbal raw material — Low Cudweed grass. The presence of raw materials base in the territory of Ukraine, the wide spectrum of pharmacological activity of the raw material, its use in the folk medicine, indicate that the pharmacopoeial standardization of Low Cudweed grass is actual. The investigations of world experience of standardization of Low Cudweed grass and experimental studies of accordance of raw material of Low Cudweed to monographs of the State Pharmacopoeia of Soviet Union have been conducted. Identification of macro- and microscopy characters of Low Cudweed grass has been adapted. The literature data about chemical composition of Low Cudweed grass have been analyzed and summarized. The marker substances for standardization of Low Cudweed grass have been chosen. The method of Thin-layer chromatography (TLC) of flavonoids has been developed and validated. The required tests and assay have been determined and the method of determination of extractable matters has been developed. The obtained results can be used for preparation of national monograph's draft «Low Cudweed grass» for including to the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Keywords: Low Cudweed grass, standardization, Pharmacopoeia.

Хохлова Катерина Олександрівна. К.фарм.н., асистент кафедри аптечної технології ліків Національного фармацевтичного університету.

Вишнеvsька Лілія Іванівна. Д.фарм.н., професор, зав. кафедри аптечної технології ліків Національного фармацевтичного університету.

Котов Андрій Георгійович. Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1982). Заст. нач. відділу ДФУ ДП «Фармакопейний центр». Д.фарм.н. (2014).

Кичимасова Яна Сергіївна. К.фарм.н., доцент кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету.

Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

УДК 615.07

Гризодуб А.И., Евтифеева О.А., Проскурина К.И., Безумова Е.В.
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»
Национальный фармацевтический университет

Стандартизованная процедура валидации спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в варианте метода показателя поглощения. Сообщение 2

Окончание. Начало см. «Фармаком» № 1, 2014.

Статья продолжает серию исследований, посвященных разработке стандартизованных процедур валидации фармакопейных методик контроля качества лекарственных средств. Разработана метрологически обоснованная стандартизованная процедура валидации спектрофотометрических методик количественного определения в варианте метода показателя поглощения. Процедура успешно апробирована на фармакопейной методике количественного определения субстанции преднизолона. Показана метрологическая некорректность некоторых фармакопейных методик количественного определения в варианте метода показателя поглощения.

Ключевые слова: спектрофотометрия, метод показателя поглощения, валидация, количественное определение.

9. Критерии линейности

Изучение линейности целесообразно проводить, как обычно, на 9 точках ($g = 9$) [9].

9.1. Остаточное стандартное отклонение RSD_0

Доверительный интервал разброса точек вокруг прямой $Y_i = b \times X_i + a$ равен $t(95\%, g-2) \times RSD_0$ и представляет собой доверительный интервал неопределенности анализа собственно образца Δ_{prec} , который должен удовлетворять неравенствам (19-23). Учитывая это, а также [8], получим:

Субстанции:

$$\begin{aligned} \Delta_{prec} &= t(95\%, g-2) \times RSD_0 = \\ &= 1.89 \times RSD_0 \leq 0.71 \times B. \end{aligned} \quad (25)$$

ГЛС, ЛРС:

$$\Delta_{prec} = 1.89 \times RSD_0 \leq 0.23 \times B. \quad (26)$$

Отсюда получим требования к величине RSD_0 ($g = 9$):

Субстанции:

$$RSD_0 \leq 0.37 \times B. \quad (27)$$

ГЛС, ЛРС:

$$RSD_0 \leq 0.12 \times B. \quad (28)$$

В случае тестов «Однородность содержания» и «Растворение» предельная неопределенность анализа $\max \Delta_{As} = 3.0\%$, что соответствует формальным допускам содержания $B = 9.3\%$ [9]. Данную величину и следует подставлять для данных тестов в соотношениях (27-28).

9.2. Коэффициент корреляции

Коэффициент корреляции рассчитывают по формуле [8]:

$$R_c = \sqrt{1 - \frac{RSD_0^2}{RSD_{range}^2}}. \quad (29)$$

Использование нормализованных координат и соотношений (27-28) и значений RSD_{range} (стандартное отклонение концентраций всех модельных растворов в нормализованных координатах [9]) позволяет получить критерии приемлемости для R_c . Учитывая высокие значения R_c , целесообразно вместо них регламентировать величины R_c^2 . Такие расчеты представлены в Табл. 3.

9.3. Свободный член линейной зависимости

Свободный член (a) прямой (13) характеризует систематическую погрешность. В соответствии с [9], требования к нему могут быть двух типов:

1. *Статистически* незначимое отличие от нуля: величина a должна быть меньше доверительного интервала своей неопределенности, т.е. ($g = 9$):

Статистическая незначимость:

$$a \leq t(95\%, g-2) \times s_a = 1.89 \times s_a. \quad (30)$$

Здесь:

s_a — стандартное отклонение свободного члена прямой (a), найденное методом наименьших квадратов.