

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

УДК 615.32: 547.9

© Т.К. Рязанова, В.А. Куркин, 2022

Т.К. Рязанова, В.А. Куркин

### ОБЗОР ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, СОДЕРЖАЩЕГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ФЕНОЛЬНОЙ И ТЕРПЕНОИДНОЙ ПРИРОДЫ

*ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»*

*Минздрава России, г. Самара*

Авторами проведено сравнительное исследование подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов в Государственной Фармакопее Российской Федерации XIV издания и Европейской Фармакопее 10 издания. В данной статье приведены основные различия в оценке подлинности и в определении количественного содержания биологически активных соединений в лекарственном растительном сырье в России и Европейском Союзе. Отмечено использование в обеих фармакопеях стандартных образцов (СО) веществ, не присутствующих в исследуемых объектах, особенно при проведении качественного анализа. Подтверждено увеличение роли СО в современном фармацевтическом анализе. Для обеспечения качества, эффективности и безопасности лекарственных средств растительного происхождения при их применении в медицинской практике показан системный подход к их стандартизации, который позволит установить научно обоснованные нормы содержания биологически активных соединений (БАС) в растительном сырье и препаратах. В связи с этим необходимо предусмотреть унификацию методик идентификации и количественного определения БАС с использованием современных инструментальных методов анализа.

**Ключевые слова:** Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания, Европейская Фармакопея, лекарственное растительное сырье, стандартизация.

T.K. Ryazanova, V.A. Kurkin

### REVIEW OF APPROACHES TO STANDARDIZATION OF MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS CONTAINING BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF PHENOLIC AND TERPENOID NATURE

There was a comparative study carried out regarding the approaches to the standardization of medicinal plant raw materials and medicinal herbal preparations in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation of the XIV edition and the European Pharmacopoeia of the 10th edition. The main differences in the identification and determination of the quantitative content of biologically active compounds in medicinal plant raw materials in Russia and the European Union have been provided. Substances of reference standards used in both pharmacopoeias are not present in the studied objects, especially when conducting a qualitative analysis. The increasing role of reference standards in modern pharmaceutical analysis has been confirmed. To ensure the quality, efficacy and safety of herbal medicines when used in medical practice, the need for a systematic approach to their standardization was shown, which will allow establishing scientifically based standards for the content of biologically active compounds in herbal raw materials and preparations. In this regard, it is necessary to provide the unification of methods for identifying and quantifying of biologically active compounds using modern instrumental methods of analysis.

**Key words:** State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition, European Pharmacopoeia, medicinal plant raw materials, standardization.

Лекарственные средства (ЛС) растительного происхождения составляют значительную часть объемов продаж на фармацевтическом рынке. Количество лекарственных препаратов (ЛП) этой группы на национальном фармацевтическом рынке составляет свыше 4000 наименований [1,5,7,9]. По данным Всемирной организации здравоохранения использование ЛС растительного происхождения имеет тенденцию к росту. Доля ЛС в общем объеме потребления может достигнуть 60%. Недостаточная изученность химического состава и фармакологической активности около 80% всех видов растений, а также разнообразие химической структуры БАС растительного происхождения открывают широкие перспективы для разработки новых эффективных ЛП с благоприятным профилем

безопасности [3,4]. Использование комплекса соединений, выделенных из ЛРС, может обладать рядом преимуществ по сравнению с индивидуальными молекулами благодаря следующим механизмам: влияние входящих в растительный экстракт соединений на разные мишени; соединения могут взаимодействовать друг с другом, улучшая биодоступность одной или нескольких активных молекул; активность/эффективность соединений может усиливаться благодаря эффектам веществ, которые противодействуют возможным механизмам резистентности [1,3,7,10].

Одной из проблем при разработке ЛС растительного происхождения является правильная идентификация ЛРС. Решение этой проблемы заключается в комбинации физических, физико-химических, химических и био-

логических методов анализа (морфолого-анатомические исследования, ультрафиолетовая спектрофотометрия (УФ-спектрофотометрия), тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография (ГХ), инфракрасная спектрометрия (ИК-спектрометрия), генетические исследования и т.д.). Использование этих методов, как правило, предполагает наличие стандартных образцов (СО), необходимых для обеспечения специфичности и достоверности исследований. Отличительной особенностью СО растительного происхождения является возможность их применения для оценки качества различного ЛРС. Стандартные образцы необходимы для контроля качества ЛС по таким показателям качества, как «Идентификация», «Количественное определение», «Родственные примеси». Стандартные образцы применяют, начиная с этапа разработки ЛП и до их использования потребителем [2,6,8,10].

Целью настоящего обзора являлись рассмотрение подходов к стандартизации ЛРС и ЛРП в различных фармакопеях мира для выявления их достоинств и недостатков и определение ассортимента СО, применяемых для стандартизации ЛС растительного происхождения.

Нами проанализированы фармакопейные статьи (ФС) в Государственной Фармако-

пее Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания и монографии в фармакопее Европейского Союза X издания на ЛРС и ЛРП. Лекарственное растительное сырье (ЛРС) классифицировали в зависимости от группы БАС, оценивали частоту использования СО для оценки подлинности и количественного определения БАС, а также частоту использования химических и физико-химических методов. В исследовании использовали методы сравнительного, логического и контент-анализов.

Согласно результатам анализа фармакопейных требований в зависимости от анализируемых БАС можно выделить следующие группы ЛРС: ЛРС, стандартизируемые по содержанию алкалоидов, фенольных (простых фенолов, фенилпропаноидов и лигнанов, кумаринов, флавоноидов, хинонов и др.), терпеноидных соединений (эфирные масла, тритерпеновые сапонины), полисахаридов, органических кислот, жирных масел.

При сравнении частоты использования хроматографических методов для оценки подлинности ЛРС выявлено, что в ГФ РФ XIV издания они применяются реже, чем при идентификации ЛРС в Европейской Фармакопее (ЕФ), в монографиях которой практически в 100% случаев описано проведение ТСХ-анализа, сопровождающегося графическим представлением порядка элюирования веществ (табл. 1).

Таблица 1

Использование хроматографических методов для оценки подлинности лекарственного растительного сырья

Виды ЛРС	Государственная Фармакопея РФ XIV издания		Европейская Фармакопея 10 издания	
	Количество ФС, в которых используются хроматографические методы	В том числе с использованием СО	Количество ФС, в которых используются хроматографические методы	В том числе с использованием СО
ЛРС, стандартизируемое по содержанию алкалоидов	3 (43 %)	1 (50%)	20 (100%)	20 (100%)
ЛРС, стандартизируемое по содержанию фенольных соединений, в том числе:	53 (80%)	47 (89%)	74 (94%)	74 (100%)
простых фенолов	2 (67%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)
фенилпропаноидов и лигнанов	9 (100%)2 (21%)	7 (78%)2 (100%)	21 (100%)	21 (100%)
флавоноидов	28 (82%)+ УФ (1)	26 (93%)	27 (96%)	27 (100%)
антраценпроизводных	6 (100%)	5 (83%)	8 (89%)	8 (100%)
дубильных веществ	5 (63%)	4 (80%)	10 (91%)	10 (100%)
ЛРС, стандартизируемое по содержанию терпеноидных соединений, в том числе:	16 (70%)	14 (88%)	58 (98%)	57 (98%)
монотерпенов, сесквитерпенов, дитерпенов в составе эфирных масел	11 (73%)+ 2 ГХ	10 (91%)+ 0 (ГХ)	36 (97%)	36 (100%)
тритерпенов (сапонинов)	4 (80%)1 (20%)	4 (100%)1 (100%)	13 (100%)	13 (100%)
тритерпенов (сердечных гликозидов)	1 (50%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)
ЛРС, стандартизируемое по содержанию полисахаридов	3 (38%)	2 (67%)	9 (75%)	9 (100%)

Примечание: ФС – фармакопейные статьи; СО – стандартный образец.

В ГФ РФ XIV издания проведение ТСХ-анализа для подтверждения подлинности ЛРС включено во все ФС на ЛРС, стандартизируемое по содержанию фенилпропаноидов и лиг-

нанов и по содержанию антраценпроизводных. Реже всего для качественного анализа хроматографические методы используются в

ФС на ЛРС, стандартизируемое по содержанию алкалоидов и полисахаридов.

Аналогичная картина в отношении использования СО для качественного хроматографического анализа ЛРС. В Европейской Фармакопее (ЕФ) ТСХ-анализ сопровождается использованием СО, что позволяет учесть возможные межлабораторные различия условий проведения испытания. В ГФ РФ XIV издания, несмотря на очевидные положительные тенденции в анализе ЛРС, в среднем в 30% случаев не предусмотрено использование СО. Часто применяют стандарты, не присутствующие в растениях (судан красный G, судан III, метиловый красный, флуоресцеин), особенно при анализе эфиромасличных растений. В ЕФ также часто при проведении ТСХ-анализа применяются СО веществ, не содержащиеся в самом растении. Этот вариант возможен для понимания относительного распределения пятен, но в каждом случае следует оценивать целесообразность применения более одного подобного вещества. С целью усовершенствования стандартизации ЛРС в следующих редакциях ГФ РФ можно использовать подход с представлением результатов ТСХ-анализа в графическом виде. Перспективной представляется возможность использования СО экстрактов или сырья для оценки подлинности исследуемых образцов ЛРС.

В ГФ РФ XIV издания увеличилась доля ФС, в которых используются инструментальные методы анализа для количественного определения действующих соединений в ЛРС (спектрофотометрия, ВЭЖХ, газовая хроматография) по сравнению с предыдущими изданиями. В отличие от предыдущих изданий отсутствуют виды ЛРС, в отношении которых не предусмотрено количественное определение отдельных БАС или их суммы. Однако в отношении двух видов ЛРС основным количественным показателем являются «Экстрактивные вещества» («Одуванчика лекарственного корни», «Ортосифона тычиночного (почечного чая) листья», в то же время в модели стандартизации ЛРС и лекарственных форм на его основе еще на этапе подготовки ГФ РФ XII издания указывалось на включение в нормативную документацию показателя, характеризующего содержание определенного действующего вещества или группы БАС.

Сравнение методов количественного определения ЛРС в ГФ РФ XIV издания и в ЕФ продемонстрировало, что в ЕФ для анализа ЛРС чаще применяется ВЭЖХ. Так, при анализе фенольных соединений в ГФ РФ XIV

издания основным методом является спектрофотометрия (50 ФС по сравнению с 5 ФС, в которых используется ВЭЖХ-метод), особенно в отношении флавоноидсодержащего ЛРС. В ЕФ, напротив, преобладают методики, основанные на методе ВЭЖХ (39 монографий по сравнению с 23, в которых используется спектрофотометрический метод). Во многих ФС в ГФ РФ XIV издания, в которых в методиках количественного определения (с использованием спектрофотометрического метода) предусмотрено использование СО, допускается расчет с использованием удельного показателя поглощения. Стоит отметить, что в ЕФ в спектрофотометрических методиках количественного определения БАС растительного происхождения, если известен удельный показатель поглощения действующего соединения, не предусмотрены альтернативы с использованием СО. Для ВЭЖХ-метода необходимо использование СО.

В ГФ РФ XIV издания и в ЕФ основным методом количественного определения антраценпроизводных является спектрофотометрия в щелочной среде. В ЕФ расчет содержания проводится с использованием удельного показателя поглощения, не требуется проводить параллельно измерения с использованием СО. В ГФ РФ XIV издания на возможность использования СО при количественном определении указано в ФС «Жостера слабительно плоды» и «Щавеля конского корни» (3-О-рутинозид рамнетина и 8-О-β-D-глюкозид эмодаина соответственно). Для определения содержания антраценпроизводных в корневищах и корнях марены необходим градуировочный график с использованием кобальта хлорида. Для листьев сенны количественное определение антраценпроизводных также проводится по калибровочному графику с использованием кобальта хлорида, однако допускается расчет с удельным показателем поглощения хризофановой кислоты. В ЕФ содержание антраценпроизводных в листьях сенны проводится в пересчете на сеннозид В.

В ЕФ содержание фенилпропаноидов в основном оценивают с использованием ВЭЖХ-метода, в ГФ РФ XIV издания – методики, основанные на методах ВЭЖХ и спектрофотометрии, составляют примерно равные доли. В ГФ РФ XIV издания для анализа содержания лигнанов в плодах и семенах лимонника используется СО дифенила, в ЕФ – стандартный образец схизандрина, что представляется более целесообразным и согласуется с химическим составом ЛРС.

Таблица 2

Использование хроматографических методов для количественного определения БАС в лекарственном растительном сырье

Класс/подгруппа соединений	Государственная фармакопея XIV издания			Европейская Фармакопея 8.0		
	Метод анализа	Количество ФС	В том числе с использованием СО	Метод анализа	Количество монографий	В том числе с использованием СО
Фенольные соединения						
Простые фенолы	Спектрофотометрия	3	2	ВЭЖХ	2	2
Фенольные кислоты	Нет данных			Титрование	2	0
Фенилпропаноиды и лигнаны	Спектрофотометрия	4	1	ВЭЖХ	16	16
	ВЭЖХ	4	4	Спектрофотометрия	3	0
				Гравиметрия	1	0
Титрование	1	0				
Ксантоны	Спектрофотометрия	1	0	Нет данных		
Стильбены	Нет данных			ВЭЖХ	1	1
Флавоноиды	Спектрофотометрия	37	28	Спектрофотометрия	14	0
				ВЭЖХ	15	15
Кумарины	ВЭЖХ	1	1	ВЭЖХ	5	5
Антраценпроизводные	Спектрофотометрия	6	2	Спектрофотометрия	9	0
Дубильные вещества	ОФС «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	8	0	Монография 2.8.14	11	0
Терпеноидные соединения						
Монотерпены, сесквитерпены, дитерпены (в составе эфирных масел)	ОФС «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»			Монография 2.8.12		
				ВЭЖХ	2	2
	Газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором	2	2	Газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором*	5	5
	Спектрофотометрия (ментол, эвкалимин)	2	1	Спектрофотометрия	1	0
	ВЭЖХ	1	1			
Иридоиды	Нет данных			ВЭЖХ	3	3
				Горечи	3	0
Тритерпены (сапонины)	Потенциметрическое титрование	1	0	ВЭЖХ	11	11
	Спектрофотометрия	3	2			
	ВЭЖХ	1	1			
Тритерпены (сердечные гликозиды)	Биологическая активность	2	2	Спектрофотометрия	1	1
Алкалоиды	Кислотно-основное титрование	6	0	Кислотно-основное титрование	6	0
	Спектрофотометрия (чистотела большого трава)	1	0	Спектрофотометрия	2	1
				ВЭЖХ	11	11
Полисахариды	Спектрофотометрия	4	1	Коэффициент набухания, время истечения, кажущаяся вязкость и др.		
	Гравиметрия	4	0			
Минорные группы						
Жирные кислоты	Гравиметрия	2	0	ВЭЖХ	1	1
	Газовая хроматография (для жирных масел)	2	0	Газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором	1	1
Органические кислоты	Титрование	3	0	Титрование	1	0
				Спектрофотометрия	1	1
Неорганические вещества	Нет данных			Титрование	1	0
Цианогенные гликозиды	Нет данных			ВЭЖХ	1	1
Аминокислоты	Нет данных			ВЭЖХ	1	1

Примечание: ОФС – общая фармакопейная статья

В ГФ РФ XIV издания основным методом количественного определения флавоноидов является спектрофотометрия, однако отличается информация об удельных показателях поглощения одних и тех же веществ:

- для комплекса рутина с алюминия хлоридом: 260 при 410 нм, 248 при 408 нм, 190 при 406 нм, 248 при 415 нм, 220 при 405 нм, 249 при 410 нм;

- для комплекса лютеолина с алюминия хлоридом: 549 при 400 нм, 549, 41 при 400 нм, 410 при 400 нм, 145 при 400 нм.

В ЕФ для анализа флавоноидов используются в равной степени и ВЭЖХ-метод и спектрофотометрические методики, однако условия проведения спектрофотометрического определения отличаются, наиболее распространенным является метод с алюминия хлоридом, но встречается с борной и щавелевой кислотами и цианидиновая проба (при анализе содержания нарингина).

При сопоставлении подходов к стандартизации терпеноидных соединений выявлено, что в ЕФ для анализа сапонинов используется только ВЭЖХ-метод, в ГФ РФ XIV издания представлены 3 ФС (женьшеня настоящего корня, синюхи голубой корневища с корнями, солодки корня, в которых используются спектрофотометрические методики), 1 ФС (аралии маньчжурской корня), в которой количественное содержание аралозидов оценивается потенциометрическим титрованием, и 1 ФС (рапунтикума сафлоровидного корневища с корнями), в которой применяется ВЭЖХ-метод (табл. 2).

Оценка ЛРС, содержащего сердечные гликозиды, в ГФ РФ XIV издания проводится по биологической активности, что, на наш взгляд, является более целесообразным по сравнению с методами химического анализа.

В ЕФ представлены 33 монографии на эфирные масла (в ГФ РФ XIV издания – 3 ФС). Основным методом качественной и количественной оценки эфирных масел является

газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором.

При сравнении методов анализа ЛРС, субстанций на его основе и ЛРП в ГФ РФ XIV издания выявлено, что не всегда методы соответствуют друг другу:

- в ТСХ-анализе листьев мяты используют СО тимола для настойки - СО ментола, в листьях, помимо эфирного масла определяют содержание флавоноидов, в настойке они не нормируются;

- для жидкого экстракта элеутерококка используют метод УФ-спектрофотометрии, но для оценки подлинности сырья этот метод не применяют; при анализе экстракта элеутерококка колючего проводят дополнительную стадию очистки (фильтрацию через слой алюминия оксида);

- имеются отличия в СО, используемых в ТСХ-методиках для оценки подлинности боярышника плодов и настойки из его плодов;

- в траве горца перечного флавоноиды рассчитывают в пересчете на рутин, в жидком экстракте – на кверцетин.

#### **Заключение**

Таким образом, проведен сравнительный анализ подходов к стандартизации ЛРС и ЛРП в Российской Федерации и Европейском Союзе. На наш взгляд, нерациональным является использование в обеих фармакопеях СО веществ, не присутствующих в исследуемых объектах. Подтверждено увеличение роли СО в современном фармацевтическом анализе. Для обеспечения качества, эффективности и безопасности ЛС растительного происхождения при их применении в медицинской практике необходим системный подход к стандартизации, который позволит установить научно обоснованные нормы содержания БАС в ЛРС и ЛРП. В связи с этим необходимо предусмотреть унификацию методик идентификации и количественного определения БАС с использованием современных инструментальных методов анализа.

#### **Сведения об авторах статьи:**

**Рязанова Татьяна Константиновна** – к.фарм.н., директор научно-образовательного центра «Фармация» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Адрес: 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru.

**Куркин Владимир Александрович** – д.фарм.н., профессор, завкафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Адрес: 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов, изд. 5. – Самара: ООО Полиграфическое объединение «Стандарт»; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2020. – 1278 с.
2. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания, Т. 4. – М., 2018. – 1833 с.
3. Bagetta, G. Herbal medicines: development and validation of plant-derived medicines for human health / G. Bagetta, M. Cosentino, M. T. Corasaniti, S. Sakurada. – CRC Press, 2021. – 520 p.
4. Bernardini, S. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches / S. Bernardini [et al.] // Natural Product Research. – 2018. – № 16 (32). – P. 1926-1950.
5. Delgoda, R. Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy / R. Delgoda; Ed. S. Badal. - Academic Press, 2016. – 738 p.

6. European Pharmacopoeia, 10th ed., EDQM, European Pharmacopoeia, Council of Europe, B.P. 907, F - 67029, Strasbourg, France, 2019.
7. Evans W. C. Trease and Evans' Pharmacognosy. / W. C. Evans. – St. Louis: Elsevier Health Sciences UK, 2014. – 600 p.
8. Harborne, J. B. Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis / J. B. Harborne. – New Delhi (India): Springer, 2008.
9. Heinrich, M. Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy / M. Heinrich, J. Barnes, J. Prieto-Garcia, S. Gibbons, E. M. Williamson. – Elsevier Health Sciences, 2018. – 352 p.
10. Leitzmann, C. Characteristics and Health Benefits of Phytochemicals / C. Leitzmann // Forschende Komplementarmedizin. – 2016. – № 2 (23). – P. 69-74.

## REFERENCES

1. Kurkin, V. A. Farmakognoziya: uchebnik dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov (Pharmacognosy: a textbook for students of pharmaceutical universities). 5-e izd.-e izd. 2020:1278. (In Russ)
2. Ministerstvo zdravookhraneniya Rossiiskoi Federatsii. Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiiskoi Federatsii XIV izdaniya (State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition). M.: 2018; 4:1833. (In Russ)
3. Bagetta G., Cosentino M., Corasaniti M. T., Sakurada S. Herbal medicines: development and validation of plant-derived medicines for human health. CRC Press, 2021:520. (in Engl.)
4. Bernardini S, Tiezzi A, Laghezza Masci V, Ovidi E. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. Nat Prod Res. 2018;32(16):1926–50. (in Engl.)
5. Delgoda R., Badal S. Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy. Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy. 2016:738. (in Engl.)
6. European Pharmacopoeia, 10th ed., EDQM, European Pharmacopoeia, Council of Europe, B.P. 907, F - 67029, Strasbourg, France, 2019. (in Engl.)
7. Evans W. C. Trease and Evans' Pharmacognosy. Elsevier Health Sciences UK, 2014:600. (in Engl.)
8. Harborne JB. Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. New Delhi (India): Springer; 2008. (in Engl.)
9. Heinrich M., Barnes, Prieto-Garcia J., Gibbons S., Williamson E. M. Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy. Elsevier Health Sciences, 2018: 352. (in Engl.)
10. Leitzmann C. Characteristics and Health Benefits of Phytochemicals. Forsch Komplementmed. 2016;23(2):69–74. (in Engl.)