

На правах рукописи

ЗАГУЗОВА ЕЛЕНА ВЛАДИМИРОВНА

**Фармакогностическое изучение и
стандартизация сбора противооксалатного и
листьев земляники восточной**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь, 2016

Диссертационная работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Степанова Татьяна Алексеевна доктор фармацевтических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России

Официальные оппоненты:

Кудашкина Наталья Владимировна доктор фармацевтических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующая кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии

Мирович Вера Михайловна доктор фармацевтических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующая кафедрой фармакогнозии и ботаники

Ведущая организация: государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится 26 января 2016 г. в 14.00 часов на заседании Диссертационного совета Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. Тел. / факс (342) 233-55-01.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России по адресу: 614990 г. Пермь, ул. Крупской, 46.

Текст диссертации размещен на сайте ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России <http://www.pfa.ru> 24 сентября 2015 г.

Дата размещения объявления о защите диссертации на сайте Министерства образования и науки Российской Федерации <http://www.mon.gov.ru> «__» _____ 2015 г.

Автореферат, отзыв научного руководителя и объявление о защите диссертации размещены на сайте ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России <http://www.pfa.ru> «__» _____ 2015 г.

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Н.В. Слепова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Многокомпонентные лекарственные препараты природного происхождения, такие как сборы, традиционно пользуются популярностью у населения России. Они отличаются доступностью и хорошо зарекомендовали себя как средства комплексной, реабилитационной терапии и профилактики многих заболеваний.

В настоящее время ассортимент фитопрепаратов для лечения заболеваний почек и мочевыводящих путей незначителен. Расширение номенклатуры растительных сборов на основе отечественного сырья, в том числе и при вышеуказанных заболеваниях, является актуальной задачей современной фармакогнозии.

В Дальневосточном государственном медицинском университете разработан сбор для лечения оксалатных нефропатий на основе лекарственных растений Дальнего Востока. Сбор включает траву горца птичьего, листья брусники, плоды шиповника, плоды калины, листья земляники, кукурузные столбики с рыльцами, семена лимонника. Все компоненты сбора имеют надежную сырьевую базу.

В последнее время существенно расширилась номенклатура растительного сырья, выпускаемого в фильтр-пакетах, в связи с чем практическое значение имеет разработка вопросов стандартизации сбора противооксалатного не только в форме «ангро» и фасованного в пачки, но и фасованного в фильтр-пакеты.

Одним из компонентов сбора являются листья земляники. Официальный вид земляники – земляника лесная (*Fragaria vesca* L.) – на Дальнем Востоке замещается земляникой восточной *Fragaria orientalis* Losinsk. Значительный ареал, запасы сырья и систематическое родство с официальным видом делают дальневосточный вид перспективным для изучения и внедрения в практику.

В связи с вышеизложенным, стандартизация оригинального сбора противооксалатного и внедрение дальневосточного вида земляники в качестве потенциального источника ценного лекарственного сырья представляет теоретический и практический интерес для фармации.

Степень разработанности темы диссертации. В последнее время вопросам разработки и стандартизации многокомпонентных фитопрепаратов уделяется определенное внимание, однако на российском фармацевтическом рынке существует потребность в расширении номенклатуры лекарственных сборов, в том числе и препаратов для лечения заболеваний мочеполовой системы. Анализ литературы по стандартизации лекарственного растительного сырья, фитопрепаратов и соответствующей нормативной документации выявил тенденции, заключающиеся в разработке надежных методов определения подлинности, избирательных методов количественного определения основных действующих веществ, а также в соблюдении принципа сквозной стандартизации при разработке методов анализа фитопрепаратов и их сырьевых компонентов.

В результате исследований отечественных и зарубежных ученых достаточно хорошо изучен химический состав, фармакогностические и фармакологические свойства земляники лесной (Н.В. Воротынцева, 2002; В.Н. Бубенчикова, 2003; И.Л. Дроздова, 2006). Сравнительный анализ листьев земляники лесной и земляники садовой, а также разработка методов стандартизации листьев земляники садовой уральского региона проводилась О.В. Петуховой в 2003 г. Вместе с тем направленные исследования по изучению дальневосточного вида земляники не выполнялись.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является разработка научно обоснованного метода стандартизации сбора противооксалатного и листьев земляники восточной.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- провести фармакогностическое исследование сбора противооксалатного;
- разработать методики количественного определения флавоноидов и арбутина в сборе;
- установить показатели подлинности и доброкачественности сбора;
- обосновать сроки годности сбора «ангро», фасованного в пачки и фильтр-пакеты;
- разработать проект нормативного документа на сбор «ангро»; сбор, фасованный в пачки и фильтр-пакеты;
- изучить выход биологически активных веществ (БАВ) в настои, полученные разными способами из сбора, фасованного в пачки и фильтр-пакеты;
- разработать методики количественного определения флавоноидов и фенольных соединений в листьях земляники восточной;
- провести сравнительное изучение биологически активных комплексов листьев земляники восточной и земляники лесной;
- изучить региональный рынок растительных средств диуретического действия и разработать маркетинговые аспекты по продвижению сбора противооксалатного.

Методологические основы и методы исследования. В основу методологии исследования положен комплексный подход к изучению химического состава и стандартизации сырья и фитопрепаратов, включающий в себя разработку современных избирательных методов качественного и количественного анализа, валидационную оценку методик. Методология исследования базируется на трудах ведущих отечественных и зарубежных ученых в области фитохимического и фармакогностического анализа, фармацевтического маркетинга, а также на использовании нормативной документации.

В работе использовались системный и структурный подходы, современные физико-химические методы анализа, методы математической статистики и фармацевтического маркетинга.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований Дальневосточного государственного медицинского университета (регистрационный номер 01201459952). Тема работы утверждена научно-плановой комиссией ДВГМУ (Протокол № 2 от 19.11.2003 г.).

Научная новизна. Проведено фармакогностическое изучение оригинального сбора противооксалатного: определены макро- и микродиагностические признаки, изучен химический состав сбора. Исследована антимикробная активность сбора. Разработаны методики определения количественного содержания арбутина и флавоноидов в сборе. Установлен характер изменения в содержании БАВ в процессе хранения сбора. Изучено влияние способа получения на выход БАВ в настои сбора противооксалатного.

Впервые определено количественное содержание основных групп фенольного комплекса в листьях земляники восточной. Проведено сравнительное изучение листьев земляники лесной и земляники восточной по содержанию основных групп БАВ. Разработаны методики количественного определения флавоноидов и фенольных соединений в листьях земляники.

Проведены маркетинговые исследования регионального рынка диуретических средств растительного происхождения, разработана стратегия по выводу на фармацевтический рынок сбора противооксалатного.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в развитии общих подходов к разработке и стандартизации препаратов на примере оригинального многокомпонентного сбора, а также накоплении фактографического материала для дальнейшей оптимизации метода сравнительного анализа близкородственных видов лекарственных растений.

Практическая значимость работы заключается в подготовке к введению в фармацевтическую практику нового фитопрепарата на основе сырья лекарственных растений Дальнего Востока. Разработан проект Фармакопейной статьи предприятия (ФСП) «Сбор противооксалатный»: обоснованы показатели подлинности и доброкачественности сбора, разработаны современные методики оценки качества сбора. Обоснованы способы приготовления настоев из сбора, фасованного в пачки и фильтр-пакеты. Показана возможность расширения сырьевой базы листьев земляники за счет внедрения в фармацевтическую практику дальневосточного вида земляники.

Материалы диссертации используются в учебном процессе Дальневосточного государственного медицинского университета. Получен акт внедрения. Методики определения флавоноидов в сборе, флавоноидов и фенольных соединений в листьях земляники восточной апробированы в КГКУЗ «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» Министерства здравоохранения Хабаровского края, что подтверждено актами

апробации и внедрения. Проект ФСП на сбор противооксалатный передан производителю ООО «ЛЕК С+». Получен акт внедрения.

Результаты исследования по сбору противооксалатному защищены патентом Российской Федерации, что подтверждает их новизну и практическую значимость.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов и выводов обеспечивается репрезентативностью выборок, использованием современных физико-химических методов анализа, валидацией методик, применением статистических методов обработки данных, в том числе критериального анализа.

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на 62-й итоговой научной конференции студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины» (Хабаровск, 2005 г.); Краевой научной конференции «Социально ориентированные научные исследования женщин-ученых Хабаровского края (Хабаровск, 2006 г.); Дальневосточной региональной научно-практической конференции «Организация лекарственного обеспечения рациональной фармакотерапии в условиях реализации национального проекта в Дальневосточном федеральном округе» (Хабаровск, 2008 г.); V Дальневосточном конгрессе «Человек и лекарство» (Владивосток, 2008 г.); Дальневосточной региональной научно-практической конференции «Дальневосточная фармация – основные тенденции развития» (Хабаровск, 2009 г.); межкафедральной научной конференции (Хабаровск, 2009 г.); Всероссийской конференции с международным участием «Состояние лесов Дальнего Востока и актуальные проблемы лесопользования» (Хабаровск, 2009 г.); Региональной научной конференции с международным участием «Биоразнообразие и проблемы экологии Приамурья и сопредельных территорий (Хабаровск, 2011 г.); Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Современное состояние и перспективы фармацевтического образования и науки для повышения кадрового потенциала Дальневосточного региона», посвященной 50-летию открытия первого на Дальнем Востоке фармацевтического факультета (Хабаровск, 2014 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пункту 6 паспорта специальности «фармацевтическая химия, фармакогнозия».

Публикации. По теме диссертации опубликовано 23 работы, в том числе 7 статей в журналах, рекомендуемых ВАК, и патент РФ на изобретение.

Личный вклад автора. Автор принимал непосредственное участие во всех этапах исследования: проведении анализа отечественных и зарубежных источников по теме диссертации, планировании и проведении научных экспериментов. Диссертантом сформулированы и сделаны выводы по работе, подготовлены статьи, тезисы, доклады, материалы для получения патента и

проект ФСП на сбор противооксалатный, разработана маркетинговая стратегия продвижения сбора на фармацевтический рынок, оформлена диссертация и автореферат.

Основные положения, выносимые на защиту: результаты фармакогностического изучения сбора противооксалатного; методики количественного определения флавоноидов и арбутина в сборе и обоснование нормативов их содержания; обоснование сроков хранения сбора; результаты изучения выхода основных групп БАВ в настои из сбора, фасованного в пачки и фильтр-пакеты; методики количественного определения флавоноидов и фенольных соединений в листьях земляники; результаты сравнительного анализа содержания БАВ в листьях земляники восточной и земляники лесной; данные по маркетинговым исследованиям продвижения сбора противооксалатного на фармацевтический рынок.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 241 странице, содержит 56 рисунков и 50 таблиц.

Диссертация состоит из введения, пяти глав, в том числе четырех глав экспериментальной работы, выводов, списка литературы и трех приложений. Список литературы включает 317 источников, из них 47 на иностранных языках.

Во **введении** раскрыта актуальность темы, определены цели и задачи, показана научная новизна и практическая значимость работы.

В литературном обзоре (**глава 1**) приводятся сведения по исследованиям лекарственных растений и БАВ, перспективных и используемых для лечения почечной патологии. Обсуждаются данные, касающиеся изучения листьев земляники, а также дается обзор по стандартизации диуретических фитопрепаратов.

В **главе 2** приведены результаты фармакогностического изучения сбора противооксалатного, этапы разработки методик количественного определения суммы флавоноидов и арбутина в сборе, обоснование методик и нормативных показателей подлинности и доброкачественности сбора, даны результаты изучения содержания БАВ в сборе в процессе его хранения.

Глава 3 посвящена изучению параметров экстракции сбора противооксалатного «ангро» и фасованного в пачки и фильтр-пакеты.

Фармакогностическое исследование листьев земляники восточной в сравнении с земляникой лесной и разработка методов количественного определения флавоноидов и фенольных соединений в листьях земляники описаны в **главе 4**.

В **главе 5** представлены материалы по исследованию регионально рынка диуретических средств и описана маркетинговая стратегия продвижения сбора противооксалатного на фармацевтический рынок.

В **приложении 1** приведен проект ФСП «Сбор противооксалатный». В **приложении 2** даны результаты фармакологического изучения сбора противооксалатного. В **приложение 3** включены акты внедрения материалов диссертации.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты, материалы и методы исследования

Объектами исследования диссертационной работы являлись сбор противооксалатный и один из компонентов сбора – листья земляники.

Сбор представляет собой смесь 7 компонентов: трава горца птичьего, листья брусники и земляники, плоды калины и шиповника, семена лимонника, кукурузные столбики с рыльцами.

Аналізу подвергались образцы сбора «ангро», фасованного в пачки и фильтр-пакеты, и образцы земляники восточной и земляники лесной, собранные в разных точках соответствующих ареалов.

Измельчение сырья для получения опытных образцов и для аналитических целей проводили на мельнице ножевой РМ-120 с соответствующими ситами.

Микроанализ проводился с использованием микроскопов Olympus CH (40×, 100×) и Micros MC400A (40×, 100×), оснащенного цифровой камерой Color View II. Цифровые фотографии микропрепаратов обрабатывали с помощью анализатора изображений в программе Mecos.

Тонкослойную хроматографию выполняли на пластинках ПТСХ «Sorbfil» и TLC Silica gel 60 F254 фирмы Merck. Образцы на пластинки наносили с помощью линомата "Camag". Анализ и обработку хроматограмм проводили с использованием систем для обработки хроматограмм с денситометрами "Camag" и "Sorbfil". Высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) проводили на хроматографе «Agilent Technologies 1100 Series», снабженном градиентным насосом Agilent 1100, термостатом А 1100, устройством А 1100 для введения образцов и спектрофотометрическим детектором, с использованием колонки Zorbax SB C 18, 4,6×250 мм с размером частиц 5 мкм.

Элементный состав объектов изучался с помощью масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой ISP-MS Elan DRC II PerkinElmer. Йод, бром, фтор определяли спектро-, ионо- и потенциметрически.

Спектрофотометрические исследования проводились на спектрофотометре марки UV-1700 Shimadzu. Валидационную оценку спектрофотометрических методик дополнительно проводили на спектрофотометрах СФ-46 и Spekol 11.

Количественное определение дубильных и экстрактивных веществ проводилось по фармакопейным методикам, флавоноидов – по рабочему и разработанному вариантам спектрофотометрической методики, арбутина – по спектрофотометрической и ВЭЖХ методикам. Сумма фенольных соединений в сборе определялась спектрофотометрически при длине волны 280 нм с пересчетом на галловую кислоту, в листьях земляники – по оригинальной методике.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 6.0, достоверность выводов подтверждалась методами однофакторного дисперсионного и критериального анализов.

Маркетинговое исследование регионального рынка диуретических препаратов базировалось на данных реализации оптового и розничного фармацевтического рынка Дальнего Востока в разрезе товарных наименований в период с 2005 по 2013 гг. Заболеваемость населения соответствующими классами болезней оценивалась на основе статистических данных, опубликованных Министерством здравоохранения Хабаровского края.

Фармакогностическое изучение и разработка вопросов стандартизации сбора противооксалатного

На первом этапе фармакогностического изучения сбора противооксалатного определялись его макро- и микроскопические признаки. В результате проведенных исследований выявлены диагностические макро- и микропризнаки, позволяющие установить присутствие всех сырьевых компонентов сбора.

Следующим этапом был изучен химический состав сбора. С помощью хроматографии и качественных реакций установлено присутствие флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, простых фенольных соединений, дубильных веществ, полисахаридов и сапонинов. Методами хроматографического анализа идентифицированы с образцами-свидетелями гиперозид, изокверцитрин, авикулярин, арбутин и хлорогеновая кислота; показано присутствие четырех лигнанов лимонника.

При определении минеральной части биологически активного комплекса сбора было установлено 39 макро- и микроэлементов. Среднее содержание элементов уменьшается в ряду: K > Ca > P > Mg > Na > Mn > Fe > Al > Ba > Sr > Zn > V > Pb > Ti > Cu > Ni > F > Br > Sn > Cr > Zr > Mo > I > As > Pb > V > Li = Co > W > La > Se > Ga > Y > Cd > Nb = Sb > Sc > Be = Yb. Не были обнаружены Hg и Ag. Определены показатели вариабельности микроэлементов в разных образцах сбора: наибольшие значения отмечены для Sn, W и As. Менее всего изменяется содержание K, Mn, V, Br, Sr и La.

Исследование перехода макро- и микроэлементов в настой показало, что, несмотря на различия в выходе отдельных элементов в водные извлечения, в целом количественное соотношение элементов в настое хорошо соотносится с элементным составом сбора ($r=0,99$).

Анализ элементного состава показал, что в терапевтической концентрации в сборе содержится марганец, а содержание магния и других эссенциальных элементов, имеющих определенное значение при оксалатной нефропатии, является необходимым дополнением к их суточному потреблению.

Количественно в сборе оценивали содержание флавоноидов, экстрактивных и дубильных веществ, суммы фенольных соединений, а также арбутина. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1– Количественное содержание экстрактивных и биологически активных веществ в сборе противооксалатном

| Статистические характеристики | Экстрактивные вещества | Дубильные вещества | Флавоноиды | Арбутин (СФМ) | Сумма фенольных соединений |
|-------------------------------|------------------------|--------------------|------------|---------------|----------------------------|
| n | 9 | 9 | 9 | 7 | 9 |
| \bar{X} , % | 33,3 | 6,55 | 1,09 | 6,44 | 4,20 |
| S^2 | 4,3 | 0,38 | 0,022 | 2,14 | 0,17 |
| V, % | 6 | 9 | 14 | 23 | 10 |

Как видно по данным таблицы 1, все исследованные вещества содержатся в сборе в терапевтически значимых количествах. В таком случае при выборе группы БАВ, по содержанию которой будет оцениваться качество серийной продукции, необходимо учитывать вклад основных БАВ в фармакологическую активность и их вариабельность в сборе. Учитывая названные критерии, стандартизацию сбора противооксалатного целесообразно проводить по содержанию флавоноидов и арбутина.

Разработка методик определения флавоноидов и арбутина в сборе противооксалатном

Для определения содержания флавоноидов в сборе при его фармакогностическом изучении и в дальнейшем для оценки сбора на производстве была разработана спектрофотометрическая методика, основанная на реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом.

В качестве стандартного образца выбран рутин, так как максимумы комплексов, образуемых флавоноидами сбора с алюминия хлоридом и рутином с этим же комплексообразователем, близки (соответственно 408 нм и 410 нм).

В ходе разработки методики было изучено влияние различных условий экстрагирования сбора на выход флавоноидов (концентрация спирта этилового, измельченность сырья, соотношение сырья и экстрагента, продолжительность и кратность экстракции), определены условия комплексообразования (количество алюминия хлорида, время образования и устойчивость комплекса).

Экспериментально установлено влияние концентрации спирта этилового и отсутствие влияния размера частиц сырья и продолжительности экстракции на выход флавоноидов в параметрах, указанных в таблице 2. Как следует из таблицы, в качестве экстрагента целесообразно использовать спирт этиловый 70%, равновесная концентрация достигается уже через 15 минут после начала

экстракции. Что касается размера частиц сбора, то дополнительные исследования показали, что оптимальными в сочетании с массой навески 2 г и двухкратной экстракцией являются частицы, проходящие сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм.

Таблица 2 – Влияние условий экстракции на выход флавоноидов из сбора противооксалатного

| Условия экстракции | Содержание флавоноидов в пересчете на рутин, % | P=95% |
|--|--|---------------------------------------|
| концентрация спирта, %: 50 70 96 | 1,12±0,10 1,25±0,09 0,85±0,03 | $F_{\text{эксп.}} > F_{\text{табл.}}$ |
| измельченность сбора, мм: 1 2 3 5 | 1,31±0,10 1,35±0,09 1,34±0,09 1,42±0,13 | $F_{\text{эксп.}} < F_{\text{табл.}}$ |
| продолжительность экстракции, мин: 15 30 45 60 | 1,34±0,12 1,34±0,09 1,27±0,13 1,34±0,06 | $F_{\text{эксп.}} < F_{\text{табл.}}$ |

При изучении реакции комплексообразования установлено, что для образования комплекса достаточно 5 мл 10% раствора алюминия хлорида, измерения оптической плотности можно проводить через 40 минут от начала реакции в течение получаса.

Валидационная оценка методики проведена по показателям: правильность, линейность, сходимость, воспроизводимость. Соответствующие эксперименты и статистическая обработка результатов подтвердила удовлетворительные характеристики разработанной методики по всем перечисленным показателям. Относительная средняя погрешность методики не превышает 3,7 %.

Для количественного определения арбутина был выбран метод ВЭЖХ, так как анализ литературы и результаты собственных исследований показали недостаточную избирательность титриметрического и спектрофотометрического определения.

При разработке методики определялись параметры пробоподготовки с акцентом на способ очистки экстракта от сопутствующих веществ. Из трех экстрагентов: вода, 40 % и 70 % спирт этиловый по результатам анализа

предпочтение было отдано спирту этиловому 70 %. Изучение кратности экстракций в сочетании с разными объемами экстрагента позволило сделать выбор в пользу двухкратной экстракции при объемах экстрагента 50 и 25 мл и навеске сырья 2 г.

При выборе способа очистки проводили сравнение результатов двух вариантов очистки: осаждением сопутствующих веществ раствором свинца ацетата основным и хроматографией на колонке с алюминия оксидом нейтральным. Установлено, что очистка извлечения свинца ацетатом по сравнению с хроматографической влечет потери арбутина в среднем около 25 %, что и обусловило выбор очистки на колонке с алюминия оксидом.

На рисунке 1 представлены хроматограммы арбутина, исходного и очищенного извлечения сбора при скорости подачи элюента 1 мл/мин, рабочей длине волны 285 нм, объема пробы 20 мкл, температуре колонки 250°C, в подвижной фазе - вода: ацетонитрил: уксусная кислота (164:36:2).

Приведенная хроматографическая картина свидетельствует об удовлетворительной очистке извлечения из сбора по сравнению с исходным. Дополнительная проверка на возможность потерь арбутина на колонке показала, что в выбранных условиях проведения очистки извлечения, потерь арбутина на алюминия оксиде не наблюдается.

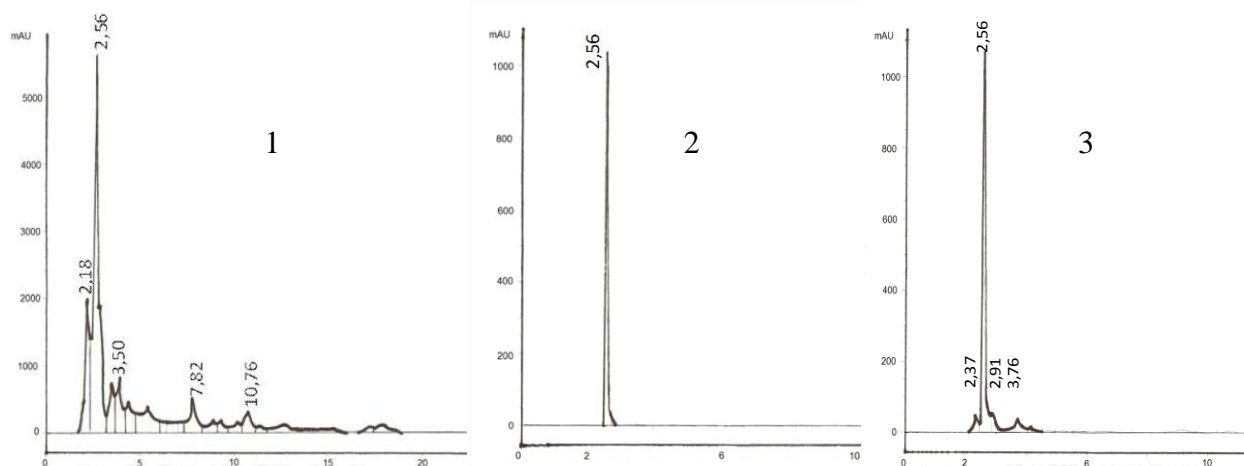


Рисунок 1 – Хроматограммы исходного извлечения из сбора (1), раствора ГСО арбутина (2), очищенного извлечения из сбора (3)

Метрологическая характеристика разработанной методики и результаты сравнения определения арбутина по оригинальной и известным методикам (спектрофотометрии и йодометрии) показали, что методика спектрофотометрического определения (СФМ) завышает результаты почти в три раза, методика йодометрического титрования (ГФ XI) занижает результаты определения на 24 %.

Как видно из таблицы 3, разработанная методика характеризуется относительно высокой избирательностью и точностью.

Таблица 3 – Содержание арбутина в сборе противооксалатном, найденное разными методами

| Статистические характеристики | Метод | | |
|-------------------------------|--------|--------|--------|
| | ВЭЖХ | СФМ | ГФ XI |
| \bar{X} , % | 3,30 | 9,63 | 2,50 |
| n | 6 | 6 | 6 |
| S^2 | 0,0167 | 0,2836 | 0,0099 |
| S | 0,1293 | 0,5326 | 0,0997 |
| S_x | 0,0528 | 0,2174 | 0,0407 |
| P, % | 95 | 95 | 95 |
| $\Delta\bar{x}$ | 0,14 | 0,56 | 0,10 |
| ε_1 , % | 9 | 16 | 10 |
| $\bar{\varepsilon}$, % | 4,1 | 5,8 | 4,2 |

Стандартизация сбора противооксалатного

Для обоснования нормативных показателей содержания арбутина и флавоноидов в сборе были проанализированы 7 серий опытно-промышленных образцов.

Как видно по данным таблицы 4, фактическое содержание флавоноидов находится в интервале от 0,93 % до 1,33 %, а арбутина – 1,77 % - 3,3 %. Учитывая полученные данные и результаты статистического анализа, в качестве норматива предложено установить содержание флавоноидов в пересчете на рутин не менее 0,6 %, содержание арбутина – не менее 0,9 %.

Таблица 4 – Содержание флавоноидов и арбутина в опытно-промышленных сериях сбора противооксалатного

| № п/п | Флавоноиды | | Арбутин | |
|-------|---------------|--|---------------|---|
| | содержание, % | статистические параметры | содержание, % | статистические параметры |
| 1 | 0,95 | $\bar{x}_{cp} = 1,06$ $x_{max} = 1,33$ $x_{min} = 0,93$ $S^2 = 0,021$ $S = 0,15$ $V = 14$ | 2,40 | $\bar{x}_{cp} = 2,32$ $x_{max} = 3,30$ $x_{min} = 1,77$ $S^2 = 0,23$ $S = 0,48$ $V = 21$ |
| 2 | 0,99 | | 2,03 | |
| 3 | 0,93 | | 1,77 | |
| 4 | 1,16 | | 2,39 | |
| 5 | 1,09 | | 2,22 | |
| 6 | 1,33 | | 2,16 | |
| 7 | 0,96 | | 3,30 | |

Для определения дополнительных характеристик доброкачественности нами был проведен анализ 6 опытных серий сбора и его порошка. В соответствии с полученными данными в проект ФСП предложено включить

следующие показатели: экстрактивных веществ, извлекаемых водой - не менее 25 %; содержание влаги – не более 10 %; золы общей – не более 10 %; золы, нерастворимой в 10 % растворе кислоты хлористоводородной – не более 2 %; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 5 мм – не более 2 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,2 мм – не более 5%. Для порошка сбора норма измельченности составляет: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм – не более 3 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,2 мм – не более 6%.

Микробиологическая чистота образцов сбора «ангро» и сбора фасованного определялась по ГФ XII. В проект ФСП в раздел "Микробиологическая чистота" рекомендовано включить оценку препарата на соответствие требованиям по категории 4А.

Для обоснования сроков хранения сбора были проведены исследования стабильности БАВ в процессе долгосрочного хранения. Анализу подвергли двенадцать серий сбора: 6 образцов сбора «ангро» и 6 образцов сбора, фасованного в фильтр-пакеты. При изучении изменчивости БАВ в сборе в процессе хранения установлено, что на протяжении 5 лет не происходит статистически достоверного снижения содержания флавоноидов и экстрактивных веществ в сборе, на содержание дубильных и фенольных веществ выбранный интервал хранения оказывает значимое влияние. Также определено, что скорость изменения содержания дубильных веществ и фенольных соединений в образцах измельченного и порошкованного сбора различается: так, достоверные изменения в содержании дубильных веществ в сборе «ангро» наблюдаются через 3,9 лет хранения, в фильтр-пакетах – через 2,6 года.

На основании полученных данных обоснованы сроки годности для сбора «ангро» и фасованного в пачки – 3 года, для сбора, фасованного в фильтр-пакеты – 2 года.

Изучение выхода БАВ в настои сбора противооксалатного

Исследования содержания экстрактивных и биологически активных веществ в компонентах сбора показало, что основными источниками экстрактивных веществ в сборе являются трава горца птичьего, листья брусники, плоды калины и шиповника, дубильных веществ – листья брусники и земляники, флавоноидов – трава горца птичьего, листья брусники и земляники.

Для разработки инструкции по применению сбора было проведено изучение влияния способа приготовления настоев на количественное содержание БАВ. Экспериментально изучалось содержание экстрактивных, дубильных веществ и флавоноидов в извлечениях, полученных фармакопейными способами приготовления настоев (1) и отваров (2), а также способами, наиболее распространенными в быту: кипячением на плитке (3), настаиванием в термосе (4) и в микроволновой печи (5). Показано, что

наибольшее влияние способ получения оказывает на выход в водные извлечения флавоноидов (38 % - 57 %) и экстрактивных веществ (64 % - 78 %), и самые незначительные – на выход дубильных веществ (61 % - 68 %).

В ходе исследований было выявлено преимущество способов 3 и 5 перед официальными по степени извлечения БАВ. В то же время различия в содержании БАВ в настоях, полученных с использованием вариантов, более приемлемых в быту, незначительны. Выход БАВ в настои из фильтр-пакетов находится на уровне показателей сбора, фасованного в пачки.

Сравнительное изучение основных биологически активных веществ листьев земляники восточной и земляники лесной

Для обоснования возможности использования дальневосточного вида земляники наряду с официальным видом, в том числе в качестве сырьевого компонента сбора противооксалатного, нами было проведено сравнительное изучение биологически активных комплексов двух близкородственных видов. Качественный анализ подтвердил присутствие фенольных соединений, флавоноидов, дубильных веществ, преимущественно гидролизуемой природы, и полисахаридов в листьях сравниваемых видов. Результаты изучения УФ-спектров и хроматографических исследований также свидетельствуют в пользу тождественности химического состава листьев земляники восточной и официального вида.

Для оценки количественного содержания БАВ в листьях земляники и с учетом перспектив подготовки ФС на сырье земляники восточной были разработаны методики количественного определения флавоноидов и фенольных соединений в листьях земляники.

Методика количественного определения флавоноидов основана на дифференциальной спектрофотометрии, и разработка ее проводилась аналогично методике определения флавоноидов в сборе. В результате проведенных исследований в качестве экстрагента был выбран спирт этиловый 70%, размеры частиц сырья – 2 мм, продолжительность экстракции – 30 мин и соотношение сырье: экстрагент – 1:150.

Как видно по данным таблицы 5, количественное содержание флавоноидов в листьях земляники восточной в среднем составляет – 3,28 %, относительная ошибка определения с доверительной вероятностью 95 % – 2,00 %, ошибка отдельной варианты – 4,9 %.

Таблица 5 – Метрологическая характеристика методики определения суммы флавоноидов в листьях земляники

| n | f | $\bar{x}, \%$ | $\Delta \bar{x}$ | S^2 | $S_{\bar{x}}$ | P, % | $\epsilon_1, \%$ | $\bar{\epsilon}, \%$ |
|----------|----------|---------------|------------------|--------|---------------|-------------|------------------|----------------------|
| 6 | 5 | 3,28 | 0,0656 | 0,0039 | 0,0255 | 95 | 4,90 | 2,00 |

Методика количественного определения суммы фенольных соединений в листьях земляники основана на измерении оптической плотности окрашенных продуктов – окислительно-восстановительной реакции с реактивом Фолина-Дениса с пересчетом на галловую кислоту. В ходе разработки методики были определены оптимальные условия образования продуктов окисления-восстановления (значение pH, количество реагента, продолжительность и температура реакции), определено время стабильности окраски раствора. Кроме того, экспериментально и статистически обоснованы оптимальные параметры пробоподготовки (измельченность сырья, продолжительность экстракции, соотношение сырья и экстрагента, кратность экстракции).

Проведенная метрологическая оценка разработанной методики свидетельствует, что среднее содержание суммы фенольных соединений в листьях земляники восточной составляет 14,6 %, а средняя относительная ошибка определения с доверительной вероятностью 95 % составляет 3,8 % (таб. 6).

Таблица 6 – Метрологическая характеристика методики определения суммы фенольных соединений в листьях земляники

| n | f | \bar{x} , % | $\Delta \bar{x}$ | S^2 | $S_{\bar{x}}$ | P, % | ϵ_1 , % | $\bar{\epsilon}$, % |
|---|---|---------------|------------------|--------|---------------|------|------------------|----------------------|
| 6 | 5 | 14,6 | 0,5484 | 0,2731 | 0,2133 | 95 | 9,23 | 3,77 |

После разработки методик было проведено сравнение химических комплексов листьев земляники восточной (ЗВ) и земляники лесной (ЗЛ) по количественному содержанию флавоноидов, дубильных веществ и суммы фенольных соединений (таб. 7).

Таблица 7 – Содержание биологически активных веществ в листьях земляники восточной и земляники лесной

| Статистические параметры | Значения статистических характеристик по выборкам | | | | | |
|--------------------------|---|------|--------------------|------|----------------------------|------|
| | флавоноиды | | дубильные вещества | | сумма фенольных соединений | |
| | ЗВ | ЗЛ | ЗВ | ЗЛ | ЗВ | ЗЛ |
| n | 15 | 12 | 15 | 12 | 15 | 12 |
| \bar{x} , % | 3,57 | 3,25 | 16,9 | 15,6 | 14,6 | 12,2 |
| Δx | 0,87 | 0,74 | 3,81 | 2,36 | 2,62 | 2,22 |
| S^2 | 0,76 | 0,54 | 14,5 | 5,57 | 6,89 | 14,5 |
| V, % | 24 | 23 | 22 | 15 | 18 | 18 |

Сравнение данных, представленных в таблице, по критерию Стьюдента выявило незначимые различия между видами в количественном содержании флавоноидов и дубильных веществ. Содержание фенольных соединений достоверно больше в дальневосточном виде.

Разработка маркетинговой стратегии продвижения сбора противооксалатного на фармацевтический рынок

Для обеспечения успешного ввода в фармацевтическую практику нового лекарственного препарата (ЛП) нами был предварительно проведен анализ регионального фармацевтического рынка ЛП и БАД, применяющихся при заболеваниях мочеполовой сферы, изучен рост заболеваемости соответствующим классом болезней в регионе и определены предполагаемые затраты при производстве сбора.

Было установлено, что макроконтур целевого сегмента регионального рынка ЛП в 2011-13 гг. имел следующие характеристики: отечественные ЛП – 68,0 % ассортимента; ЛП, обладающие диуретическим эффектом – 60,7 %; представляющие группу ЛРС – 39,7 %; монокомпонентные препараты – 70,6 %; упакованы в пачки – 20,2 %. Относительная емкость сегмента растительных диуретиков в 2010-2014 гг. составляла 0,4 % общей емкости регионального фармрынка, при этом среднегодовые темпы роста сегмента превышали 15 %. Доля стоимостного объема продаж ЛРС в фильтр-пакетах в 2013 г. находилась на уровне 54 %, при этом соотношение доли сборов и монокомпонентного сырья в общих продажах сегмента составляло соответственно 70 % и 30 %. Вместе с тем, в период 2011-2013 гг. можно отметить тенденцию роста уровня заболеваемости населения Хабаровского края болезнями мочеполовой системы: от 7,5 % заболевших болезнями этого класса от общего числа больных в 2011 г. до 7,7 % в 2013 г.

При разработке стратегии продвижения сбора противооксалатного были рассмотрены два варианта производства: на специализированном предприятии и в аптечной организации. Проведенный анализ с расчетом потребностей регионального рынка в новом препарате, оценкой издержек производства и определением диапазона розничных цен позволил установить, что более предпочтительным является вариант заводского производства. Общие рекомендации в рамках разработки стратегии продвижения сбора противооксалатного представлены в диссертационной работе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общие выводы

1. В результате фармакогностического изучения подтверждено присутствие в сборе противооксалатном основных групп БАВ, идентифицировано 5 индивидуальных веществ, установлен элементный состав. Установлено, что среднее содержание дубильных веществ составляет – 6,6 %, суммы фенольных соединений – 4,2 %, экстрактивных – 33,3 %, флавоноидов – 1,1 %, арбутина – 2,3 %.

2. Установлены показатели подлинности сбора: выявлены диагностические макро- и микропризнаки, определены характеристики УФ-

спектра и стандартной хроматограммы.

3. Разработана спектрофотометрическая методика определения флавоноидов в сборе, дана ее валидационная оценка. Обоснован норматив содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин – не менее 0,6 %.

4. Разработана ВЭЖХ методика определения арбутина в сборе, определены ее статистические параметры. Обоснован норматив содержания арбутина в сборе – не менее 0,9 %.

5. Установлены показатели доброкачественности сбора: содержание влаги, золы, нормы измельченности. Обоснованы сроки годности сбора: «ангро» и фасованного в пачки – 3 года, фасованного в фильтр-пакеты – 2 года.

6. Разработан проект ФСП на сбор «ангро», сбор фасованный в пачки и фильтр-пакеты.

7. Изучен выход БАВ в настои, полученные разными способами. Обоснован способ по применению сбора, фасованного в пачки и фильтр-пакеты.

8. Разработаны спектрофотометрические методики количественного определения флавоноидов и суммы фенольных соединений в листьях земляники, определены их статистические параметры.

9. Проведено сравнительное изучение БАВ листьев земляники лесной и земляники восточной. Определено количественное содержание флавоноидов в листьях земляники восточной – 3,57 %, дубильных веществ – 16,9 %, суммы фенольных соединений – 14,6 %. Показана тождественность химического состава листьев земляники лесной и земляники восточной.

10. Проведены маркетинговые исследования регионального рынка препаратов диуретического действия: определен макроконтур целевого сегмента, установлено, что емкость сегмента растительных диуретиков в 2010-2014 гг. составляла 0,4 % общей емкости регионального фармрынка, при этом среднегодовые темпы роста сегмента превышали 15 %. Разработана маркетинговая стратегия продвижения сбора противооксалатного, в том числе установлено, что оптимальным условием является производство сбора на специализированном предприятии.

Практические рекомендации и перспектива дальнейшей разработки темы. Разработанные методики определения действующих веществ в сборе и листьях земляники могут применяться в работе аналитических и фитохимических лабораторий. Проект ФСП на сбор отвечает современным требованиям к нормативной документации на соответствующие фитопрепараты и рекомендуется для использования при внедрении оригинального фитопрепарата в фармацевтическую практику. Маркетинговые исследования соответствующего сегмента регионального фармацевтического рынка могут быть применены производителями и дистрибьюторами при составлении бизнес-планов продвижения ЛП для лечения заболеваний мочеполовой системы.

В результате проведенных исследований показана целесообразность дальнейшей разработки методов стандартизации листьев земляники восточной для последующего включения дальневосточного вида в перечень официальных видов лекарственных растений наряду с земляникой лесной, что позволит расширить сырьевую базу листьев земляники.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Мечикова, Г.Я. Изучение возможности использования в медицине земляники восточной / Г.Я. Мечикова, **Е.В. Загузова**, Т.А. Степанова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2004. – Вып. 59. – С. 40-41.
2. Определение подлинности оригинального противооксалатного сбора методом микроскопии / **Е.В. Загузова**, Е.В. Михайлова, Г.Я. Мечикова, Т.А. Степанова // Науч. конф. Алтайского государственного медицинского университета «Фармацевтическому факультету АГМУ 30 лет»: юбилейный сб. науч. трудов. – Барнаул, 2005. – С. 76-79.
3. **Загузова, Е.В.** К вопросу определения подлинности сбора противооксалатного / **Е.В. Загузова** // 62 итоговая науч. конф. студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины»: мат. конф. – Хабаровск, 2005. – С. 107-109.
4. Саврова, О.А. Влияние фаз вегетации на содержание БАВ в листьях земляники восточной / О.А. Саврова, **Е.В. Загузова** // 62 итоговая науч. конф. студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины»: мат. конф. – Хабаровск, 2005. – С. 118-120.
5. **Мечикова, Г.Я.** Определение суммы флавоноидов в листьях земляники восточной / Г.Я. Мечикова, **Е.В. Загузова**, Т.А. Степанова // Дальневосточный медицинский журнал – 2005. – № 2. – С. 78-81.
6. **Загузова, Е.В.** Региональный рынок растительных средств диуретического действия / **Е.В. Загузова**, А.С. Степанов // Фармация. – 2007. – № 7. – С. 26-28.
7. Мечикова, Г.Я. Земляника восточная – перспективное лекарственное растение Дальнего Востока / Г.Я. Мечикова, Т.А. Степанова, **Е.В. Загузова** // Первая краевая науч. конф., посвященная 68-й годовщине Хабаровского края «Социально ориентированные научные исследования женщин-ученых Хабаровского края»: мат. конф. – Хабаровск: РИЦ ХГАЭП, 2007. – С. 180-191.
8. **Мечикова, Г.Я.** Количественное определение суммы фенольных соединений в листьях земляники / Г.Я. Мечикова, Т.А. Степанова, **Е.В. Загузова** // Химико-фармацевтический журнал. – 2007. – Том 41, № 2. – С. 38-41.
9. **Загузова, Е.В.** Фармакогностическое изучение листьев земляники восточной / **Е. В. Загузова**, Г. Я. Мечикова, Т. А. Степанова // Региональная науч.-прак. конф. «Организация лекарственного обеспечения рациональной фармакотерапии в условиях реализации национального проекта в

Дальневосточном федеральном округе»: сб. науч. трудов. – Хабаровск, 2008. – С. 44-45.

10. **Загузова, Е.В.** Разработка маркетинговой стратегии вывода на региональный рынок нового фитопрепарата, влияющего на мочеполовую систему / **Е.В. Загузова, А.С. Степанов** // **Практический маркетинг. – 2008. – № 7. – С. 26-31.**
11. **Загузова, Е.В.** Разработка нового многокомпонентного фитопрепарата на основе дальневосточного лекарственного растительного сырья: маркетинговые аспекты / **Е.В. Загузова, А.С. Степанов** // V Дальневосточный конгресс «Человек и лекарство», V межрегиональная науч.-практ. конф. «Повышение эффективности аптечного бизнеса с помощью маркетинговых инструментов»: сб. мат. конф. – Владивосток, 2008. – С. 42-44.
12. **Изучение элементного состава сбора противооксалатного** / **Е.В. Загузова, Т.А. Степанова, Н.А. Цимбалист, Г.Я. Мечикова** // **Дальневосточный медицинский журнал. – 2009. – № 2. – С. 96-98.**
13. Мечикова, Г.Я. Предварительные фитохимические исследования листьев *Fragaria orientalis* Losinsk / Г.Я. Мечикова, **Е.В. Загузова** // Дальневосточ. региональная науч.-практ. конф. «Дальневосточная фармация – основные тенденции развития», посвященная 45-летию фармацевтического факультета ДВГМУ: сб. науч. трудов. – Хабаровск, 2009. – С. 80-82.
14. **Загузова, Е.В.** Изучение выхода биологически активных веществ из оригинального сбора противооксалатного в настои / **Е.В. Загузова, Т.А. Степанова** // Дальневост. региональная науч.-практ. конф. «Дальневосточная фармация – основные тенденции развития», посвященная 45-летию фармацевтического факультета ДВГМУ: сб. науч. трудов. – Хабаровск, 2009. – С. 61-63.
15. **Загузова, Е.В.** Исследование изменчивости содержания биологически активных веществ в сборе противооксалатном в процессе хранения / **Е.В. Загузова, Г.Я. Мечикова, Н.А. Цимбалист** // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2009. – Вып. 64. – С. 49-50.
16. **Загузова, Е.В.** Сравнительное изучение качественного состава листьев земляники восточной и земляники лесной / **Е.В. Загузова, Г.Я. Мечикова** // Всероссийская конф. с международным участием «Состояние лесов Дальнего Востока и актуальные проблемы лесоправления». – Хабаровск, 2009. – С. 127-129.
17. **Загузова, Е.В.** Разработка методики количественного определения флавоноидов в сборе противооксалатном / **Е.В. Загузова, Т. А. Степанова** // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2010. – Вып. 65. – С. 320-324.
18. **Загузова, Е.В.** Разработка физико-химических критериев подлинности сбора противооксалатного / **Е.В. Загузова, Т.А. Степанова** // Региональная науч.-

- практ. конф. «Теоретические, экспериментальные и практические основы формирования регионального рынка БАДов». – Хабаровск, 2011. – С. 18-23.
19. **Загузова, Е.В.** Бактериологические исследования оригинального противооксалатного сбора на основе лекарственных растений Дальнего Востока / **Е.В. Загузова, И.П. Кольцов** // Региональная науч. конф. с международным участием «Биоразнообразие и проблемы экологии Приамурья и сопредельных территорий». – Хабаровск, 2011. – С. 98-101.
20. Пат. **2556201** Российская Федерация, МПК **A61K36/704, A61K36/79, A61K36/73, A61K36/45, A61K36/35, A61K36/899, A61P13/12.** **Нефропротекторная композиция** / **Т.А. Степанова, Е.В. Загузова, Н.В. Воронина**; заявитель и патентообладатель **ГБОУ ВПО ДВГМУ Минздрава России. № 2013114904/15**, заявл. **02.04.2013**, опубл. **10.07.2015**.
21. **Загузова, Е.В.** Аналитические исследования регионального рынка диуретических препаратов в период 2010-2013 гг. / **Е.В. Загузова, А.С. Степанов** // Межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 50-летию открытия первого на Дальнем Востоке фармацевтического факультета. – Хабаровск, 2015. – С. 58-59.
22. **Загузова, Е.В.** **Определение содержания арбутина в оригинальном противооксалатном сборе на основе лекарственных растений Дальнего Востока** / **Е.В. Загузова, Т.А. Степанова, Н.А. Цимбалит** // **Химия растительного сырья. – 2015. – № 2. – С. 127-133.**
23. **Степанов, А.С.** **Анализ регионального рынка лекарственных препаратов для лечения заболеваний мочеполовой системы (2004-2013 гг.)** / **А.С. Степанов, Т.А. Степанова, Е.В. Загузова** // **Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/129-22003>. (дата обращения: 10.11.2015).**

Загузова Елена Владимировна (Россия)

Фармакогностическое изучение и стандартизация сбора противооксалатного и листьев земляники восточной

Работа посвящена фармакогностическому исследованию и стандартизации оригинального сбора для лечения оксалатных нефропатий и дальневосточного вида земляники. С использованием спектрофотометрии, масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой, хроматографии (ВЭЖХ, ТСХ) и других современных методов анализа изучен химический состав сбора, определено влияние способа получения на выход БАВ в настои из сбора, проведено сравнительное изучение листьев земляники лесной и земляники восточной. Проведены маркетинговые исследования регионального рынка диуретических средств растительного происхождения, разработана стратегия по выводу на фармацевтический рынок сбора противооксалатного. Разработан проект ФСП на сбор противооксалатный. Показана возможность расширения сырьевой базы листьев земляники за счет внедрения в фармацевтическую практику дальневосточного вида земляники.

Zaguzova Yelena Vladimirovna (Russia)

Pharmacognostic study and standardization of anti-oxalate collection and leaves of Eastern wild strawberries (*Fragaria orientalis* Losinsk)

The research is devoted to pharmacognostic study and standardization of genuine herbs collection for the treatment of oxalate nephropathies and the Far Eastern species of wild strawberry. We used spectrophotometry, mass-spectrometry with inducted connected plasma, chromatography and other modern methods to study a chemical composition of a collection. We determined the effect of production method on Biologically Active Substance (BAS) extraction into the tinctures from collections. We also made a comparative analysis of wild forest and Far Eastern strawberry leaves. Marketing analysis of Regional market of plant diuretics was performed. Strategy to introduce anti-oxalate collection to the pharmaceutical market was worked out. A project for pharmacological standardization of a collection was offered. A possibility to increase raw base of wild strawberry by implementing into pharmaceutical practice Far Eastern strawberry species into pharmaceutical practice was demonstrated.