

УДК 615.32:615.07:543.544:543.42:543.51

ПРОБЛЕМЫ КОМПЛЕКСНОГО ХИМИЧЕСКОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

© С.В. Морозов^{1,2}, Н.И. Ткачева¹, А.В. Ткачев^{1,2*}

¹Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова
Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН),
пр. Академика Лаврентьева, 9, Новосибирск, 630090 (Россия)

²Новосибирский государственный университет (НГУ), ул. Пирогова, 2,
Новосибирск, 630090 (Россия), e-mail: atkachev@nioch.nsc.ru

Интерес и внимание к фитотерапии в России увеличиваются с каждым годом, что согласуется с общемировыми тенденциями. Обеспечение растущего спроса неизбежно приводит к появлению фитопрепаратов низкого качества и эффективности, а иногда и к полной фальсификации растительного сырья и препаратов из него. Поэтому одна из важных проблем в области медицины, биомедицины, фармакогнозии и фитохимии – фармацевтическая безопасность и качество растительного сырья, растительных препаратов и лекарственных средств из растительного сырья. В обзоре рассмотрены современные методологические подходы к решению проблем такого рода, различные концепции идентификации, оценки подлинности и контроля качества лекарственных средств растительного происхождения с использованием маркеров различного типа и инструментальных методов хроматографического профилирования (одним из методов метаболомных исследований) растительных композиций, спектральные и спектрально-хроматографические методы, используемые для решения этих задач, вопросы стандартизации растительного сырья, препаратов и лекарств на его основе, мировой опыт в решении задач по оценке качества растительного сырья и фитопрепаратов и состояние исследований в России.

Ключевые слова: лекарственные растения, фармакогнозия, химические маркеры, хроматографические профили, спектральные профили, идентификация, метаболомика, фармацевтическая безопасность.

Работа выполнена в рамках проекта № 0302-2018-0005 (46.1.3.) «Высокотехнологическая аналитическая платформа для исследований в области фармакогнозии, фитохимии, клинической и экспериментальной медицины, химической экологии и для обеспечения экологической, фармацевтической и продовольственной безопасности».

Оглавление

Морозов Сергей Владимирович – заведующий лабораторией экологических исследований и хроматографического анализа, кандидат химических наук,
e-mail: moroz@nioch.nsc.ru
Ткачева Наталья Ивановна – старший научный сотрудник, кандидат химических наук, e-mail:
yaqoshen@nioch.nsc.ru
Ткачев Алексей Васильевич – заведующий лабораторией терпеноидных соединений, доктор химических наук, профессор, e-mail: atkachev@nioch.nsc.ru

Введение.....	6
Проблемы стандартизации и оценки качества фитопрепаратов.....	7
«Внешние» проблемы.....	8
«Внутренние» проблемы.....	8
Подходы к стандартизации растительного сырья и фитопрепаратов.....	9
Метаболомика.....	10
Концепция маркеров.....	11
Типы маркеров.....	12
Химическое профилирование.....	13
Хроматографические профили.....	14
Спектральное профилирование.....	14

* Автор, с которым следует вести переписку.

Масс-спектрометрия.....	15
Спектроскопия ядерного магнитного резонанса.....	15
Гибридные методы.....	17
Методы анализа массивов.....	17
Исследования в России.....	18
Итоги анализа.....	19
Список литературы.....	20

Введение

Интерес к фитотерапии в последние 20 лет переживает возрождение во всем мире. Согласно данным Секретариата Конвенции о биологическом разнообразии* мировой объем продаж растительных препаратов в 2000 г. оценивался в ~60 млрд долларов США, в 2008 г. – 83 млрд долларов США, а при ежегодном росте в 7% достигнет к 2050 г., как ожидается, объема в 5 трлн долларов США [1]. Возрождение интереса к лекарственным средствам растительного происхождения (ЛСРП) (=фитопрепаратам) обусловлено как постоянно выявляющимися побочными эффектами современных синтетических лекарственных средств, так и отсутствием лекарств для лечения хронических и длительно протекающих заболеваний. За последние три десятилетия использование ЛСРП значительно увеличилось, причем не менее 80% людей во всем мире полагаются на них при лечении ряда заболеваний [2, 3].

Несмотря на широкое использование лекарственных препаратов на основе растительного сырья, многие практикующие врачи за рубежом считают их недостаточно эффективными. Этому способствует, по крайней мере, две причины. Первая – это плохая фитохимическая воспроизводимость, связанная с особенностями производства растительных экстрактов, когда стандартизация и контроль качества осуществляются не на всех стадиях производственного процесса, а лишь на финальной стадии по некоторым интегральным показателям, зачастую не связанным с активностью препарата. Вторая причина связана с ферментными системами, участвующими в детоксикации – цитохромами и АВС-белками. Различные группы растительных метаболитов – полифенолы, сапонины, терпены и алкалоиды, всегда попадали в организм человека вместе с пищей. Не обладая какой-либо пищевой ценностью, такие вещества распознавались системами детоксикации как ксенобиотики. Таким образом, цитохромы и белки АВС-белки со временем эволюционировали для эффективного распознавания и детоксикации поступающих с пищей непитательных, а потому «бесполезных» вторичных метаболитов растительного происхождения. Это обстоятельство, вполне вероятно, и ограничивают действие фитопрепаратов. Возможные пути преодоления этих препятствий на пути эффективного использования потенциала фитопрепаратов обсуждаются в обзоре [4].

Растительное сырье использовалось в качестве источника лекарственных средств с древнейших времен. Большое число лекарственных препаратов было получено из природных продуктов (вторичных метаболитов) или из соединений, полученных на основе природных веществ. С конца XX века интенсивность исследований фармацевтических компаний в области природных продуктов снизилась [5], отчасти из-за акцента на высокопроизводительный скрининг синтетических библиотек [6]. Наблюдается существенное снижение количества новых разрешений на лекарства и надвигающейся утраты патентной защиты важных лекарственных средств. Однако разработка новых методов «умного скрининга», роботизированного разделения со структурным анализом, метаболической инженерии и синтетической биологии привели к возобновлению интереса к природным веществам как источникам новых лекарств [5] и предлагают захватывающие перспективы для открытия новых лекарств на основе природных соединений [7].

Хотя терапия с участием фитопрепаратов имеет высокий потенциал, существует вероятность недостаточно эффективного, а также побочного (опасного) действия ЛСРП, связанных с плохим качеством лекарственного сырья и конечных продуктов.

В обзоре [8] рассматриваются проблемы, связанные с токсичностью, и основные проблемы безопасности, возникающие в связи с использованием лекарственных трав, а также освещаются некоторые важные проблемы, связанные с эффективным мониторингом их безопасности. Загрязненность поступающего из Азии лекарственного растительного сырья (ЛРС) нежелательными компонентами также является проблемой безопасного использования фитопрепаратов. Это – общая проблема, а не только российского рынка. Например, в 1990-х годах в Бельгии и Великобритании наблюдались серьезные нефротоксические

* *англ.*: Secretariat of the Convention on Biological Diversity (<http://www.cbd.int/secretariat/>)

осложнения у лиц, принимавших китайские травы (*Stephania tetrandia* и *Clematis armandii*) с целью похудения, которые оказались контаминированы аristolохией (*Aristolochia* sp.) – растением, содержащим ари-столохиновые кислоты, являющиеся канцерогенами и поражающие почки [9, 10].

Глобальный всплеск интереса к лекарственным растениям и ЛСРП привел к увеличению спроса на них, а расширение производства для удовлетворения спроса закономерно привело к снижению качества фитопрепаратов, в первую очередь – из-за отсутствия адекватных правил, относящихся к данному сектору медицины. Фармакопеи всех стран, и Фармакопея СССР и Фармакопея РФ в том числе, в части описания химического состава ЛРС были сформулированы недостаточно полно, что делает возможными разнообразные фальсификации препаратов из растительного сырья. Интенсивная коммерциализация этой сферы привела к тому, что фальсификация фитопрепаратов приобрела угрожающие масштабы. Все это обуславливает необходимость глубокого исследования химического состава биологически активных веществ (БАВ) лекарственных растений и совершенствования методов оценки его подлинности и качества.

В этой связи возникает настоятельная необходимость развивать системный подход и разработать хорошо продуманную прагматичную методологию для идентификации и стандартизации растительного сырья, растительных препаратов и лекарственных средств из растительного сырья с использованием данных по компонентному химическому составу. Чрезвычайно актуальной является разработка аналитических *протоколов* (стандартизованных процедур), которые позволят установить научно обоснованные критерии подлинности растительных объектов и, таким образом, обеспечить фармацевтическую безопасность*, которая – по определению Всемирной организации здравоохранения – понимается как комплекс научных исследований и видов деятельности, связанных с выявлением, оценкой, пониманием и предотвращением побочных эффектов или любых других проблем, связанных с лекарствами [11]. Современный уровень инструментального обеспечения исследовательских работ по изучению химического состава лекарственных растений позволяет выбрать оптимальную аналитическую платформу для получения данных о детальном составе биологически активных соединений и разработки научно обоснованных критериев качества.

Цель настоящей работы – обзор данных мировой научной литературы о современных методологических подходах и аналитических платформах для исследования составов лекарственных растений, о научно обоснованных подходах к выбору критериев подлинности и качества лекарственных растений и фитопрепаратов, основанных на профилировании и анализе маркеров, о мировом опыте в решении таких задач и состоянии исследований в России.

Проблемы стандартизации и оценки качества фитопрепаратов

Традиционные системы медицины используют фитопрепараты на протяжении многих веков и тысячелетий в качестве эффективных средств лечения и профилактики различных заболеваний.

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определяет фитопрепараты как материалы растительного происхождения и препараты с терапевтическими и другими полезными для здоровья действиями, которые содержат сырье или обработанные ингредиенты из одного или более растений [11]. Выделяют 4 группы материалов такого типа:

- 1) растительное сырье (сырое или обработанное – листья, цветы, плоды, семена, стебли, древесина, кора, корни, корневища и т.д.);
- 2) растительные материалы (соки, масла – жирные и эфирные, камеди, смолы, иногда – предварительно обработанные паром или обжаренные, в смеси с медом, алкогольными напитками и другими продуктами);
- 3) сырые растительные продукты (отвары, таблетки, неочищенные экстракты и т.д.);
- 4) стандартизованные травяные продукты, состоящие из экстрактов (вытяжек) из одного или более растений.

Продукты и смеси, приготовленные на основе перечисленных выше растительных материалов с добавками синтетических или специально выделенных компонентов, не относятся к категории травяных продуктов.

Качество фитопрепаратов определяется многими факторами. Эти факторы действуют от начала выращивания растений до момента использования готовых форм. Все факторы можно условно разделить на факторы «внешние» по отношению к растению (окружающая среда, условия культивирования, методы

* *англ.*: pharmacovigilance

сбора, послеуборочная обработка, транспортирование и условия хранения) и «внутренние» («генетические»), которые определяются генотипом растения [12].

«Внешние» факторы касаются загрязнений растительного материала и продуктов из него (пестицидами, тяжелыми металлами, микроорганизмами), а также преднамеренного (фальсификация) или непреднамеренного (ошибочная идентификация растений) изменения состава фитопрепарата по сравнению со стандартом [11]. «Внутренние» факторы – это (1) сложность химического состава смесей растительных метаболитов, (2) непостоянство химического состава во времени из-за химических и биохимических процессов, протекающих на всех этапах сбора, хранения и переработки растительного сырья, (3) непостоянство химического состава из-за спонтанной внутривидовой изменчивости, (4) непостоянство химического состава, не обусловленного генетическими факторами (из-за адаптационных эффектов, вызванных переменными внешней среды).

«Внешние» факторы сложны для учета, «внутренние» – еще более сложные.

«Внешние» проблемы

Решение «внешних» проблем находится в компетенции руководства отдельных стран, поскольку сводится к созданию законодательной базы в части регуляции рынка лекарственных растений и фитопрепаратов, где главные сферы контроля связаны с выращиванием, производством и оборотом фитопродукции.

ВОЗ в 2003 г. выпустило руководство по «правильному» выращиванию и сбору лекарственных растений* [12], имеются региональные и национальные рекомендации такого типа в ЕС, Китае, Японии. В свою очередь, производство растительных продуктов должно следовать правилам GMP†, а торговля – правилам GSP‡. В Китае, например, в 2004–2009 гг. были сертифицированы в соответствии с национальными GACP 63 специальных поля для выращивания лекарственных растений, а также 430 баз площадью 11 000 км², сертифицированных в соответствии с региональными GACP. После проведенной сертификации качество растительных продуктов значительно улучшилось. Вместе с тем отсутствие научно обоснованных стандартных операционных процедур§ продолжает вызывать проблемы [1].

Однако даже точное соблюдение упомянутых выше стандартов не решает всех проблем. Из-за множества факторов, которые влияют на концентрацию активных ингредиентов в растительных материалах и продуктах, определяющих потребительские качества фитопрепаратов, контроль качества и обеспечение стабильности – большая проблема для производства растительных лекарственных веществ. В настоящее время рассматриваются 2 возможных подхода к решению проблем такого рода. Первый – балансирование концентрации активных компонентов путем смешения нескольких партий одного и того же вида растительного сырья с разными аналитическими характеристиками. Второй – изготовление препаратов из стандартизованных растительных компонентов, что может рассматриваться как некий «мост» между традиционными растительными лекарственными средствами и современной фармацевтикой [1].

Неукоснительное соблюдение GACP, GMP и GSP позволяет свести к минимуму риски загрязнения, фальсификации и др. Стандартные продукты растительного происхождения с управляемым качеством могут быть изготовлены с использованием современных аналитических и фармацевтических методов. Тем не менее в настоящее время достижения в области изучения состава БАВ лекарственных растений являются региональными и частичными. Для достижения общего улучшения качества необходимо предпринимать шаги по углублению методологических исследований и совершенствованию нормативно-правовой базы.

«Внутренние» проблемы

Растения синтезируют большое разнообразие метаболитов различных групп – жирные кислоты, стериды, алкалоиды, флавоноиды, гликозиды, сапонины, танины, терпены, фенольные соединения и т.п. Экстракт даже из одного вида растения может содержать сотни различных компонентов. Сложность химического состава и естественная изменчивость растений порождают самый существенный в настоящее время блок проблем, связанных со стандартизацией и оценкой качества растительного сырья и фитопрепаратов [1].

Во-первых, любой растительный экстракт представляет собой сложную смесь растительных метаболитов и артефактов, образующихся из нативных компонентов в ходе переработки растительных материа-

* «Good Agricultural and Collection Practices» – GACP

† «Good Manufacturing Practices» – GMP

‡ «Good Supply Practices» – GSP

§ *англ.*: Standard Operating Procedures – SOP

лов [13, 14]. Выполнить качественный анализ (идентификацию всех основных компонентов) и количественный анализ (содержание этих компонентов) с использованием современных спектрально-аналитических приемов теоретически возможно, но на практике оказывается неосуществимым в подавляющем большинстве случаев из-за огромного объема требуемой для этого экспериментальной работы. Во-вторых, из-за изменчивости растений можно из двух образцов одного и того же вида растения, выращенного по всем правилам в разных условиях, получить два фитопрепарата, которые формально будут «одинаковыми» (так как получены одинаковым образом из одного и того же вида сырья), но существенно различаться по составам и свойствам. Более того, известны настолько изменчивые виды растений, что фитопрепараты и экстракты, получаемые из них в разное время в разных местах «правильным образом» мало похожи друг на друга [15]!

Один из подходов к решению этих проблем – разработка научно обоснованных подходов к идентификации растительного сырья и фитопрепаратов с использованием единой интегрированной информационной системы, состоящей из электронных библиотек, включающих морфологические характеристики растительного сырья и данные по биологической активности, характеристические наборы метаболитов с их спектрально-хроматографическими характеристиками, стандартизованных методов (протоколов) пробоподготовки, выполнения анализов и идентификации.

Подходы к стандартизации растительного сырья и фитопрепаратов

Несмотря на то, что во всем мире ведется большая работа по созданию стандартов для лекарственных растений, нет единого мнения относительно того, как именно такие стандарты должны выглядеть, поскольку множество факторов влияет на качество лекарственного растительного сырья. Вместе с тем очевидно, что методы стандартизации должны принимать во внимание все аспекты качества растительных лекарственных средств, а именно: ботаническую и морфологическую идентификацию лекарственного образца, органолептическую оценку, химический профиль, содержание летучих веществ, фотохимическую стабильность, сроки хранения, тесты на ксенобиотики, микробное загрязнение, токсичность и биологическую активность [16, 17]. Из всего перечисленного химический профиль имеет особое значение, поскольку имеет прямое отношение к действию (активности) фитопрепаратов.

ВОЗ разработала руководящие принципы для научных исследований по оценке безопасности и эффективности фитопрепаратов (лекарственных трав) [18], которые призваны обеспечить:

- идентичность и качество фитопрепаратов;
- надежность и воспроизводимость результатов исследований фитопрепаратов;
- должным образом подготовленные описания, включающие физические и химические тесты, хроматографические процедуры для идентификации активных компонентов, или – если это невозможно – процедуры получения характеристических хроматограмм (хроматографических «отпечатков пальцев»).

По сравнению с синтетическими лекарствами, критерии и подходы к фитопрепаратам значительно сложнее, поскольку активные соединения не всегда известны, а химический состав характеризуется вариабельностью, обусловленной различными факторами. В этой связи при анализе и стандартизации фитопрепаратов возникают специфические проблемы, которые порождаются тем, что:

- 1) препараты из растительного сырья являются смесью многих соединений – вторичных метаболитов растительного происхождения и артефактов;
- 2) активные соединения не всегда известны;
- 3) эталонные соединения могут быть недоступны;
- 4) химическая изменчивость фитопрепарата, приготовленного стандартным способом (отражение как естественной изменчивости живых организмов, так и влияния факторов внешней среды);
- 5) химическая изменчивость фитопрепарата как функция изменений условий сбора и хранения сырья, процессов переработки на всех стадиях и особенностей экстракционных процедур.

Официальными документами, регулирующими требования к качеству ЛРС и ЛСРП в России и зарубежных странах, являются национальные фармакопеи [19–27]. В России наряду с Государственной Фармакопеей Российской Федерации XIII издания в настоящее время действуют ГФ СССР X и XI изданий, ГФ РФ – XII издание, а также другие нормативные документы (ГОСТы, ОСТы, ОФС, ФС, ФСП, ВФС, ТУ), регламентирующие качество ЛРС.

В фармакопеях разных стран подходы к формированию монографий на лекарственное растительное сырье и перечень нормируемых показателей его качества различаются, но требования к качеству ЛРС, заложенные в фармакопеях разных стран, в настоящее время сближаются.

Одним из основных показателей качества ЛРС является содержание в нем БАВ. Во всех зарубежных фармакопеях в разделе «Качественные реакции» обязательными являются результаты проведения испытаний с использованием хроматографических методов. В случае подтверждения подлинности сырья хроматографическими методами могут быть приведены хроматограммы (Европейская, Британская фармакопей). В разделе «Числовые показатели» указано, что при проведении анализа широко используются современные хроматографические (ГХ, ВЭЖХ и др.) и спектроскопические методы анализа, отличающиеся высокой степенью точности в определении различных веществ. Тексты частных ФС сопровождаются иллюстративными материалами (хроматограммы, спектры).

Требования к качеству ЛРС сформулированы в общих и частных ФС ГФ РФ XIII издания. В разделе «Подлинность» для определения основных групп БАВ используют в основном метод тонкослойной хроматографии. В разделе «Количественное определение» определяется содержание действующих веществ (индивидуальных веществ или суммы веществ), хотя для некоторых видов ЛРС такой показатель отсутствует. Кроме того, нормируется содержание экстрактивных веществ и эфирного масла.

Следует отметить недостаточное использование хроматографических методов (ГХ, ВЭЖХ и др.) для оценки качества ЛРС. Кроме того, существующие методики определения БАВ позволяют установить лишь суммарное содержание отдельных групп БАВ и не содержат данных о детальном химическом составе ЛРС, которые чрезвычайно важны для оценки качества.

Примером разработки новых подходов к стандартизации критериев качества ЛРС по содержанию эфирного масла могут служить разработанные стандарты по хроматографическим профилям эфирных масел [28, 29].

Разработка и внедрение современных методов идентификации и количественного определения БАВ в ЛРС важны для выявления особенностей компонентного состава БАВ и оценки фармакологического действия. Они позволят создать базу для совершенствования нормативной документации, особенно в части отражения в ней параметров качества ЛРС, связанных с химическим составом.

Метабономика

Любое лекарственное растение может быть охарактеризовано через его метаболит, который определяется как совокупность всех метаболитов, являющихся конечным продуктом обмена веществ. Метабономика как изучение уникальных химических «отпечатков пальцев» живых организмов (низкомолекулярных метаболитических профилей) играет важнейшую роль в современных научных направлениях, связанных с изучением человека, животных и растительных организмов.

Концепция индивидуального метаболитического профиля подразумевает, что каждый организм имеет свой уникальный профиль. Вместе с тем организмы одной группы имеют схожие профили, отличающиеся от профилей организмов других групп. На этом основаны принципы групповой идентификации организмов по характерным низкомолекулярным метаболитическим профилям.

Метаболом подвержен изменчивости, как и сам живой организм, который этим метаболом характеризуется, поскольку состав метаболитов зависит от физиологического состояния и возраста организма, а также от влияния разнообразных внешних факторов, что приводит к эффектам адаптации к изменяющимся внешним условиям и, как следствие этого, – к изменению состава метаболитов.

Изучение метаболитических профилей для получения информации об изменениях метаболизма, связанных с внешними факторами окружающей среды, патологическими процессами и не генетическими изменениями, носит название метабономики. Метабономика сформировалась как результат фундаментальных исследований в области здравоохранения человека, однако в настоящее время разработанные технологии, концепции и математические алгоритмы применимы для изучения животных, растений, микроорганизмов [30]. Следующим этапом развития метабономики является биоинформатика [31].

Метабономика стала мощным инструментом скрининга различных биологических источников для обнаружения новых антибиотиков и других фармакологически активных препаратов. Использование инструментов метабономики позволяет выполнить дифференциальный анализ выборочных популяций, чтобы проследить зависимость содержания важнейших биомаркеров от разнообразных переменных [32].

Особое внимание уделяется изучению малых молекул, которые играют центральную роль в биологии, являясь медиаторами многих ключевых процессов, таких как обмен веществ, трансдукция различных сигналов, спаривание и химическая защита. Малые молекулы обычно характеризуются принадлежностью к какой-либо традиционной категории природных веществ, как то: метаболит, вторичный метаболит, феромон, гормон и т.д. Вместе с тем эти категории часто перекрываются, и одно соединение может появляться под более чем одним функциональным заголовком. Поэтому в целях унификации всё чаще используется термин малые биогенные молекулы*, чтобы описать любую небольшую молекулу из биологического источника. Две основные области химических исследований – химия природных соединений и метаболомика – имеют в качестве своей цели идентификацию биогенной молекулы либо как очищенное активное соединение (химия природных соединений), либо как биомаркер определенного биологического состояния (метаболомика) [33].

В обзоре [34] метаболомика как всеобъемлющий фитохимический анализ растений рассматривается в связи с проблематикой функциональной геномики и системной биологии, анализируются исторические аспекты становления и эволюции химического профилирования метаболитов как современного мощного инструмента исследования растений.

Углубленный анализ вторичных метаболитов дает огромные возможности для открытия новых природных БАВ. Вместе с тем биоинформационный анализ показывает, что традиционные стратегии обнаружения новых вторичных метаболитов к настоящему моменту, по-видимому, лишь коснулись поверхности реального «вторичного метаболитического ландшафта» [35]. Подходы на основе метаболомики в состоянии устранить разрыв между потенциалом, закодированным геномом, и удивительно небольшим количеством известных активных соединений для конкретного объекта. Роль вторичной метаболомики играет все возрастающую роль для идентификации новых природных веществ в контексте обнаружения новых лекарств [35].

При исследованиях растительных экстрактов и медицинских препаратов растительного происхождения упор делается, как правило, на анализ вторичных метаболитов, среди которых найдено большое количество БАВ, однако многие первичные метаболиты также представляют большой интерес [36].

Концепция маркеров

Из анализа мировой литературы следует, что в настоящее время решение проблемы стандартизации лекарственных растений и фитопрепаратов во всем мире обсуждается в рамках парадигмы, рассматривающей живой организм определенного вида как совокупность ферментных систем, продуцирующих определенный набор первичных и вторичных метаболитов – метаболом, что позволяет найти для каждого вида характерный набор веществ или групп веществ, которые являются характеристичными фрагментами метаболома и, таким образом, представляют собой химические маркеры этого организма [37–40]. С этой точки зрения, исследуя состав и содержание маркеров, можно определить, какой именно биологический вид использовался для приготовления исследуемого образца.

На сегодняшний день не существует единого стандартного подхода или детальной схемы для выбора подходящих химических маркеров для стандартизации растительных продуктов. В работе [41] описана система ранжирования маркеров, в которой содержится руководство по определению приоритетов в выборе химических маркеров для контроля качества сложных смесей из нескольких растительных объектов с учетом биоактивности и концентрации в смесях.

Выбор химических маркеров имеет решающее значение для контроля качества лекарственных средств растительного происхождения, а также для идентификации и оценки подлинности. До сих пор нет единого представления о том, какой из растительных метаболитов может быть маркером, а какой – нет. Идеальные маркеры – терапевтические компоненты (действующие вещества), то есть те компоненты растения и фитопрепаратов из него, которые обуславливают те или иные полезные свойства. Однако для многих лекарственных растений действующие вещества не идентифицированы, а полезное свойство фитопрепарата обусловлено наличием сложного комплекса компонентов разной природы и физиологической активности.

* *англ.*: biogenic small molecules – BSM

Типы маркеров

Европейское агентство по лекарственным растениям* определяет химические маркеры как химические соединения или группы соединений, которые имеют интерес для целей контроля качества (подлинности, идентификации) независимо от того, обладают ли они какой-либо терапевтической активностью [39]. При этом маркеры подразделяются на аналитические и активные [42–44]. Однако существуют и иные системы классификации. В качестве примера можно привести еще 3 системы классификации маркеров, которые обсуждаются в разных литературных источниках:

система 1:

- активные вещества
- активные маркеры
- аналитические маркеры (не имеют активности)
- отрицательные маркеры (аллергены, токсины)

система 2:

- активные вещества
- активные маркеры
- группа маркеров (компоненты, имеющие сходное строение или сходные физико-химические свойства)
- аналитические маркеры
- фантомные маркеры (компоненты, известные по их фармакологическому действию, но трудно обнаруживаемые или не обнаруживаемые с помощью используемых аналитических методов)
- отрицательные маркеры
- весь набор маркеров (= полный химический профиль, спектральный или хроматографический)

система 3:

- терапевтические компоненты
- биологически активные компоненты
- синегрические компоненты (вещества, модулирующие терапевтические эффекты)
- характерные соединения (специфические, обладающие терапевтическим действием)
- основные компоненты (наиболее распространенные, их биологическое действие может быть неизвестно)
- корреляционные компоненты (географические маркеры, маркеры хранения и маркеры методов извлечения)
- токсичные компоненты
- общие компоненты с профилем («отпечатки пальцев»).

Обобщая сказанное выше с учетом результатов исследований, проведенных во многих странах мира, можно утверждать, что маркеры бывают трех видов:

- 1) активные маркеры – вещества, одно или несколько соединений, специфичные для данного лекарственного растения, для которых доказано, что они определяют активность данного фитопрепарата;
- 2) химические маркеры – вещества, не имеющие отношения к активности фитопрепарата (или это не доказано), но характерные (специфические) для данного вида растения;
- 3) общие маркеры – неспецифические маркеры, представленные во многих растениях или во многих препаратах и характеризующие некие групповые свойства (принадлежность к определенной группе организмов, общность схем сбора, хранения и переработки растительного сырья и т.п.).

При всей полезности использования маркеров в анализе растительного сырья и фитопрепаратов такой подход не лишен недостатков, которые иногда становятся камнем преткновения при попытках практического использования [39]. Перечислим лишь некоторые из очевидных:

- терапевтические компоненты: индикация эффективности не всегда осуществима;
- токсичные компоненты определяются с целью обеспечения безопасности, однако для этого требуются обширные токсикологические исследования;
- биологически активные компоненты могут указывать на эффективность, но не всегда указывают на подлинность и качество;

* *англ.*: European Medicines Agency – EMEA

- основные компоненты: стабильность состава и соответствие по доминирующим компонентам не всегда указывают на подлинность и качество препарата;
- корреляционные компоненты нужны для прогнозирования сроков хранения, методов извлечения и географии, однако для этого нужны обширные фитохимические исследования;
- синергические компоненты: для выявления синергического действия нужны обширные фармакологические исследования;
- характерные компоненты важны для качественного анализа (идентификации), однако их использование не всегда возможно либо из-за изменчивости материала (когда характерные компоненты то появляются, то исчезают), либо из-за отсутствия таких характерных компонентов в определенных растительных материалах.

Химические маркеры являются ключевыми в практике контроля качества и должны использоваться на различных стадиях, таких как сбор растительного сырья, определение подлинности, определения вида, оценки качества, стабильности, токсичности. Главная проблема контроля качества – отсутствие и нехватка маркеров [39].

Безусловным мировым лидером в части использования фитопрепаратов является Китай, где по данным ВОЗ традиционные травяные препараты составляют 30–50% общего лекарственного потребления. Неудивительно, что Китай продвинулся дальше других в области исследования составов и разработок методов анализа и контроля качества фитопрепаратов с использованием современных прецизионных спектрально-хроматографических методов [45–47]. Фармакопея Китая [19] содержит 551 лекарственное растение, для 281 из них приведено 1 или 2 химических маркера, которые могут быть использованы для контроля качества. Общее количество химических маркеров для контроля качества китайских травяных лекарств включает 282 позиции. В обзорах [46, 48] обсуждается развитие стратегий контроля качества средств традиционной китайской медицины на основе микроскопической и молекулярной идентификации, количественного и качественного анализа, химических «отпечатков пальцев», комбинации химических «отпечатков пальцев» и многокомпонентной количественной оценки.

Некоторые важнейшие соединения, которые являются химическими маркерами различных растительных объектов, являются коммерчески доступными веществами. Однако при проведении исследовательской работы большая часть интересующих маркеров оказывается недоступной, поэтому их приходится выделять и очищать в лаборатории. На пути выделения и очистки потенциальных маркеров возникает множество проблем экспериментального характера, и последние достижения в части их преодоления можно найти в обзоре [49], где процитированы также более ранние работы на эту тему.

Маркерами могут быть не только компоненты вполне определенной и известной природы и структуры. В силу специфики ферментных систем живых организмов химической характеристикой данного организма может служить не только спектр определенных маркеров, но и сам набор метаболитов, получаемый и изучаемый каким-либо определенным образом.

Химическое профилирование

Из-за сложности метаболома и разнообразия структур и свойств отдельных его компонентов весь метаболом разом невозможно увидеть ни в одном эксперименте: не существует ни методов извлечения (экстракции), которые бы обеспечили извлечение всех метаболитов одновременно, ни аналитических и спектральных методов, которые бы позволили одновременно наблюдать все компоненты метаболома. В этом смысле метаболом напоминает пазл, который складывается из отдельных фрагментов – химических «отпечатков пальцев», получаемых с использованием тех или иных экстракционных и спектрально-аналитических процедур.

Традиционным методом профилирования является метод хроматографических «отпечатков пальцев», рекомендуемый ВОЗ. Однако стремительное развитие спектрально-аналитических методов в направлении изучения метаболитов растительного и животного происхождения в настоящее время позволяет говорить о профилировании в более широком смысле, подразумевая не только хроматографические, но и различные иные способы получения химических образов сложных систем, с использованием методов, основанных на других физических принципах. Спектральный профиль рассматривается как сумма спектров всех компонентов, содержащихся в образце. Он может быть получен без предварительной пробоподготовки с использованием высокоинформативных методов, таких как масс-спектрометрия, спектроскопия

ЯМР, инфракрасная спектроскопия. При таком подходе хроматографические «отпечатки пальцев» в виде хроматографических профилей являются одним из вариантов химического профилирования, наряду с профилированием, основанным на молекулярных спектрах (масс-спектрах, электронных спектрах, колебательных спектрах, спектрах ЯМР). В качестве примера можно привести ЯМР-профилирование* биологических объектов различного происхождения [50–52].

Хроматографические профили

Различные варианты инструментальной хроматографии эффективно используются для контроля качества медицинских препаратов, полученных на основе природных соединений [53]. Метод хроматографических «отпечатков пальцев» – наиболее информативный метод для исследования лекарственных растений и лекарственных средств растительного происхождения [45, 47, 53–61]. В основе метода – комплекс экстракционных и хроматографических процедур, которые используются для визуализации сложного химического состава.

ВОЗ определила «метод хроматографических профилей»† как метод идентификации медицинских растений [62]. Прогресс в области инструментальных методов хроматографического анализа способствовал широкому распространению этого метода для исследования природных веществ. Хроматографический профиль – это визуальный образ набора компонентов, характеризующий данный вид растения и получаемый строго определенным способом [63, 64]. Отдельные компоненты хроматографического профиля зачастую не поддаются простой идентификации (хотя их химическая природа бывает ясна), но сам их набор является характеристичным для данного растения и может быть использован в качестве своего рода «отпечатков пальцев».

В анализе методами хроматографического профилирования основными методами являются современные прецизионные одномерные и двумерные хроматографические методы – газовая хроматография (ГХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), а также хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ-МС, ГХ-МС/МС, ВЭЖХ-МС, ВЭЖХ-МС/МС [57, 59, 63, 65]. Методы ГХ и ГХ-МС используются для исследования летучих метаболитов растений, таких, как, например, компоненты эфирных масел [13]. Кроме того, эти методы широко применяются при анализе природных малолетучих полярных соединений после их дериватизации [56]. Методы ВЭЖХ и ВЭЖХ-МС применяются для анализа нелетучих и термолabileльных соединений и используются для изучения терпенов, алкалоидов, флавоноидов и др. [56, 66]. Использование методов газовой и жидкостной хроматографии с различными видами детектирования (масс-селективный детектор, диодно-матричный детектор) в сочетании с соответствующими базами масс-спектрометрических данных и спектрально-хроматографическими коллекциями позволяет в большинстве случаев получить информацию о профиле соединений сложных природных смесей и идентифицировать компоненты без выделения индивидуальных соединений и использования большого набора стандартных веществ.

В фитохимических исследованиях капиллярный электрофорез (КЭ) применяется для изучения профилей полярных метаболитов – алкалоидов и флавоноидов [67]. Метод широко используется в стандартизации лекарственного сырья и фитопрепаратов [68, 69].

Не теряет своей значимости для получения «отпечатков пальцев» метод тонкослойной хроматография (ТСХ/ВЭТСХ) [56]. На сегодняшний день этот метод применяется для первичной идентификации лекарственных растений в фармакопеях разных стран – России, Индии, Китая, США, Великобритании и др.

Спектральное профилирование

Различные спектральные методы, используемые при анализе природных веществ, характеризуются разной информативностью. В метаболомике наиболее широко используются две аналитические платформы – спектроскопия ЯМР и масс-спектрометрия [70], однако это не означает, что другие спектральные методы не пригодны для изучения метаболома. Для решения конкретных задач с успехом используются инфракрасные спектры и электронные спектры поглощения, которые в ряде случаев дают уникальную и очень важную информацию. Однако подавляющее большинство исследований выполняется именно методами профилирования с использованием масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР.

* *англ.*: NMR profiling

† *англ.*: chromatographic fingerprint technology

Масс-спектрометрия

В силу высокой чувствительности и информативности различных вариантов масс-спектрометрического эксперимента, стратегии на основе масс-спектрометрии давно и успешно используются при исследовании метаболитов растительного [58] и микробиологического происхождения [71].

Методы масс-спектрометрии хорошо подходят для высокопроизводительной характеристики природных веществ, однако в сообществе исследователей нет возможности обмениваться данными, отличными от опубликованных, а коммерчески доступные базы данных содержат относительно небольшой объем информации и не могут оперировать с необработанными данными. В работе [72] обсуждается создание системы для обеспечения совместного использования и сохранения данных в виде глобальной сети по природным веществам (Global Natural Products Social Molecular Networking = GNPS; <http://gnps.ucsd.edu>) как базы знаний открытого доступа для совместного использования «сырой» и обработанной спектрометрической информации.

При наличии множества масс-спектрометрических библиотек для обеспечения совместного использования и поиска необходимых данных найти все спектры, которые соответствуют конкретному соединению в разных базах данных, остается проблематичным. Для решения этой проблемы предложен спектральный идентификатор, который улучшает обмен масс-спектрами и возможности поиска требуемой информации [73].

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), помимо широкого использования для изучения строения органических молекул, может быть с успехом использована как для изучения растительных тканей и живых растений целиком [74, 75], так и для изучения смесей метаболитов любой сложности [76]. Несмотря на существенно меньшую чувствительность по сравнению с масс-спектрометрией, спектроскопия ЯМР обеспечивает мощный дополнительный метод идентификации и количественного анализа метаболитов растений как *in vivo*, так и в тканевых экстрактах. Метаболические профили, получаемые методом ЯМР, используются для целей систематики (классификация и таксономия), в анализе генно-модифицированных растений, выявлении влияния на метаболитом внешних факторов (химические обработки, воздействие факторов окружающей среды и патогенов) [77].

Методом ЯМР можно получить профили широкого спектра метаболитов из различных растительных тканей или клеток [78], поэтому ЯМР является мощным подходом к профилированию метаболитов растений и обеспечивает данные о метаболоме, не доступные другими методами [79]. ЯМР дает объективную информацию о профилях метаболитов в растительных экстрактах. Последние достижения спектроскопии ЯМР высокого разрешения в области наук о растениях обобщены в обзоре [80], а использование ЯМР для получения информации о флуктуациях эндогенных метаболических профилей для растительных клеток при действии ксенобиотиков обсуждается в работе [81].

Несмотря на многие достижения последних лет, недостаточная чувствительность и разрешающая способность ЯМР по-прежнему представляют собой серьезную проблему и ограничивают как количество обнаруживаемых метаболитов, так и точность количественных измерений [82].

Вместе с тем ЯМР дает огромные преимущества при оценке чистоты лекарственных препаратов. По сравнению с хроматографией и элементным анализом количественный ЯМР* является почти универсальным методом обнаружения целевых веществ и обеспечивает прямое определение их чистоты или количественного содержания [83].

Спектроскопия ЯМР может использоваться для идентификации и количественной оценки химических веществ из сложных смесей. Это можно сделать полуавтоматически путем сравнения интересующей смеси с библиотекой эталонных спектров, полученной из чистых соединений известных концентраций. Этот конкретный подход в настоящее время используется, чтобы характеризовать метаболомы различных биологических образцов в так называемой количественной метаболомике или целевом метаболическом профилировании. Некоторые практические аспекты, связанные с количественной метаболомикой на основе ЯМР, обсуждаются в обзоре [84] вместе с характеристикой сильных сторон и ограничений метода. Последние достижения в части разработки приборов и импульсных последовательностей, а также практические соображения, необходимые для выполнения измерений методом количественного ЯМР обсуждаются

* *англ.*: quantitative Nuclear Magnetic Resonance – qNMR

в обзоре [85]. Абсолютный количественный ЯМР с гибкой калибровкой позволяет обнаруживать и измерять аналиты, которые часто недоступны для обнаружения другими методами (вода, сорбенты) [86].

Применительно к анализу и стандартизации растительных экстрактов и растительных продуктов количественный ЯМР имеет ряд очевидных преимуществ перед ставшими уже традиционными хроматографическими методами [87]. Главное преимущество состоит в том, что количественные измерения методом ЯМР не требуют наличия чистого аутентичного стандарта соединения и могут быть выполнены с использованием любого коммерчески доступного чистого образца в качестве внутреннего эталонного стандарта [88]. Кроме того, количественные измерения можно проводить одновременно для многих компонентов анализируемой смеси [89]. При соблюдении определенных условий регистрации спектров можно использовать один внешний стандарт для определения концентрации многих образцов [90]. Более того, в некоторых случаях количественные измерения можно проводить без добавления какого-либо дополнительного стандарта вообще, используя в качестве точки отсчета концентрации сигналы растворителя [91].

Одномерные спектры ЯМР ^1H (1D ЯМР) растительных экстрактов характеризуются, как правило, множественным перекрытием пиков отдельных компонентов и перегруженностью некоторых важных для идентификации спектральных областей, поэтому проводятся работы по использованию двумерных вариантов ЯМР (2D ЯМР) для полуавтоматической идентификации метаболитов и количественной оценки их содержания. Однако отсутствие специального программного обеспечения для этой цели существенно сдерживает применение методов 2D ЯМР в метаболомике [92].

Сочетание спектроскопии ЯМР и методов распознавания образов способствует применению метаболомики для обнаружения биомаркеров, поэтому количество работ в этой области от года к году растет экспоненциально [93, 94]. В этой связи важным является развитие приёмов многофакторного анализа данных о метаболоме на основе спектроскопии ЯМР [95].

Во многих случаях ЯМР применяется для целевого профилирования и «количественной» метаболомики, что требует больших временных затрат. Для сокращения времени анализа разработан автоматический метод идентификации и количественного определения метаболитов в одномерных протонных спектрах ЯМР [96].

Иногда и спектры 2D ЯМР имеют недостаточное разрешение при анализе очень сложных систем, поэтому разрабатываются различные приемы, основанные на сравнительном анализе достоверно различающихся образцов и статистического подхода с использованием нескольких выборок [33].

Метод ЯМР позволяет получить целостное представление о наборе метаболитов при определенных условиях, однако для максимального использования полученной информации важно располагать единой платформой для измерения, хранения и обмена данными. Публичных баз данных для хранения и обмена информацией в области метаболомики растений с применением ЯМР по-прежнему не хватает [97].

Исторические аспекты разработок в области ЯМР, его применения в химическом профилировании, метаболомике и контроле качества важных в практическом отношении растений и полученных из них лекарственных препаратов, пищевых продуктов и других материалов обсуждаются в обзоре [98], где также отмечаются узкие места ЯМР в метаболомическом профилировании.

При анализе экстрактов медицинских растений и медицинских препаратов на основе растительного сырья первичные гидрофильные метаболиты высокой полярности (сахара, аминокислоты, пептиды и низшие органические кислоты) обычно не обнаруживаются с помощью стандартных технологий хроматографического анализа, хотя зачастую вносят важнейший вклад в формирование активности фитопрепаратов. Эту проблему позволяет решить профилирование методом ЯМР ^1H , который может быть эффективно использован для идентификации и количественной оценки содержания малых полярных молекул – первичных растительных метаболитов в растительных экстрактах и готовых препаратах [36].

Данные, получаемые методом ЯМР, в сравнении с масс-спектрометрическими методиками характеризуются, во-первых, очень высокой воспроизводимостью, во-вторых, позволяют выполнять количественные измерения в широком динамическом диапазоне и, в-третьих, не имеют себе равных в плане предоставляемой информации о строении новых, неизвестных метаболитов. Все это делает метаболомику на основе ЯМР перспективной и динамично развивающейся областью научных и прикладных исследований [99].

Гибридные методы

Давно известно, что комплексное использование физических и физико-химических методов дает существенные преимущества перед использованием одного, пусть даже самого информативного метода. Поэтому почти всегда исследователи растительного сырья и фитопрепаратов оперируют тем или иным *набором* аналитических платформ. Так, чрезвычайно перспективным является одновременное применение масс-спектрометрии и ЯМР в виде комбинированного использования разных по природе данных, получаемых методами масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР, что обеспечивает своего рода «синергизм» и улучшает результаты идентификации компонентов метаболома [100]. В некоторых случаях формируются единые подходы к использованию тех или иных комбинаций методов. Например, комплексная стратегия для идентификации неизвестных компонентов в сложных смесях метаболитов, объединяющая масс-спектрометрию высокого разрешения и ЯМР, рассмотрена в работе [101].

Помимо совместного использования разных по своей природе спектрально-аналитических данных, существуют так называемые *гибридные методы*.

Обсуждение гибридных методов анализа, подразумевающих использование как минимум двух разных по своей природе методов анализа, реализованных в одном приборе, в контексте изучения растительных метаболитов подразумевает, как правило, использование хромато-спектроскопических методов. При анализе такими методами сначала происходит разделение компонентов анализируемой смеси хроматографическим методом (газовая, газо-жидкостная, жидкостная, сверхкритическая хроматография) с непрерывной регистрацией спектра элюата для получения спектра отдельных компонентов. Наиболее широкое распространение в области фитохимического анализа имеют в настоящее время различные варианты хромато-масс-спектрометрии. Обзор гибридных методов и стратегий их применения приведен в работе [102]. Новейшие достижения гибридных методов в области фармацевтических и биомедицинских анализов обсуждаются в обзоре [103].

Разнообразные гибридные методы стали важнейшим инструментом в различных стратегиях быстрой идентификации известных соединений при поиске новых БАВ [61]. Использование гибридных методов в сочетании с микрофракционированием и биотестированием позволяет значительно ускорить химическое профилирование и обеспечивает возможность различить уже известные биологически активные соединения и новые молекулы непосредственно в сырых растительных экстрактах [104]. Перспективным является совместное использование инструментальной хроматографии и спектроскопии ЯМР. Достоинства и недостатки ЯМР как компонента гибридных методов обсуждаются в работе [105].

Как было сказано выше, жидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрией стала основной аналитической платформой в области химического профилирования [65]. Одним из основных узких мест таких исследований остаётся уровень точности, при котором можно идентифицировать растительные метаболиты. Важнейшую роль в решении этой проблемы играют хромато-спектроскопические базы данных, которые позволяют значительно ускорить идентификацию известных метаболитов, а также обнаруживать новые вещества [106].

В последние два десятилетия показано, что онлайн-связанная жидкостная хроматография – ядерная магнитно-резонансная спектроскопия – масс-спектрометрия (ВЭЖХ-ЯМР-МС)* является мощным современным инструментом для обнаружения и идентификации известных и, что более важно, новых соединений в сложных смесях природного происхождения. В обзоре [107] рассматриваются основные понятия и условия, при которых ВЭЖХ-ЯМР-МС подходит как рутинное средство для фитохимического анализа с особым упором на выбор оптимальных экспериментальных условий.

Методы анализа массивов

«Сборка» метаболома из различных фрагментов (химических «отпечатков пальцев»), получаемых в результате применения различных спектрально-аналитических приёмов при изучении биологического объекта, неизбежно приводит к формированию большого информационного массива. Обработка получаемых сложных наборов данных является важным шагом, который оказывает большое влияние на качество получаемых результатов. К настоящему времени разработано множество методов и программных средств для манипуляции с экспериментальными данными в области метаболомики. В работе [108] дан обзор научной литера-

* *англ.* Liquid Chromatography – Nuclear Magnetic Resonance – Mass Spectrometry (LC-NMR-MS)

туры и рассмотрены основные этапы обработки метаболомических данных с акцентом на методы обработки результатов жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Средствами анализа больших объемов данных являются методы статистического анализа [109]: многомерный анализ^{*}, дискриминантный анализ[†], кластерный анализ[‡], факторный анализ[§], корреляционный анализ^{**}, вместе с методом главных компонент^{††}, а также приемы и методы, использовавшиеся ранее в транскриптомике и других «омиках», и методы визуализации, специально предназначенные для метаболомики [110]. Следует помнить, однако, что ни один из этих методов не является панацеей, поскольку является чисто математической обработкой данных и не учитывает реальные связи между параметрами. В обзоре [111] обсуждается использование многомерного анализа для изучения метаболома с акцентом на «подводные камни» как источники возможных ошибок при интерпретации результатов и распространенные заблуждения.

Исследования в России

По статистическим данным 60% населения России применяет лекарственные травы и препараты из растительного сырья либо собственной заготовки и приготовления, либо в виде коммерчески доступных фитопрепаратов [112]. Анализ структуры ресурсов лекарственного растительного сырья в РФ в конце XX века показывает, что до 1990 г. осуществлялось преимущественное развитие производства культивируемого лекарственного сырья, удельный вес которого к 1990 г. достигал 48%, что соответствовало мировым тенденциям развития сырьевой базы лекарственных растений. Однако в период с 1991 г. по 1999 г. произошло резкое ухудшение товарной структуры в пользу дикорастущего лекарственного сырья, удельный вес которого увеличился с 52 до 83%, при этом посевные площади сократились в 1,5 раза, а объемы производства – почти в 5 раз [113]. Таким образом, отечественное производство лекарственного сырья в промышленных масштабах в 1990–2010 гг. было фактически разрушено, и в настоящее время предприятия работают преимущественно на импортных поставках [114]. К примеру, в 2007 г. в Россию было импортировано более 10 000 тонн растительного сырья [115]. Очень часто на рынок поступают синтетические аналоги сомнительного биологического действия вместо натуральных растительных препаратов. Хотя стандартизация и качество растительных продуктов эволюционируют, однако они остаются добровольным делом производителей, поэтому фитопрепараты различных производителей могут значительно отличаться; вариабельность в составе и содержании действующих веществ растительного продукта параллельно с разнообразием техники их экстракции и технологических процессов, осуществляемых различными производителями, приводит к вариабельности качества коммерчески доступных растительных препаратов на рынке [9].

В Российской Федерации многочисленные фитохимические, фармакогностические и фармакологические школы (Санкт-Петербург, Москва, Ярославль, Самара, Пятигорск, Курск, Пермь, Новосибирск, Белгород, Улан-Удэ и др.) выполняют исследования по различным аспектам использования лекарственных растений в медицине. Первое в Российской Федерации системное исследование современного состояния законодательной базы в области номенклатуры и стандартизации официальных отечественных и зарубежных видов ЛРС и фитопрепаратов содержится в монографии [116]. На основании анализа ситуации авторы сделали ряд заключений, которые состоят в следующем:

1. В настоящее время фитотерапия в России является юридически закрепленной частью государственной системы здравоохранения. Интерес и внимание к фитотерапии как к эффективному и безопасному методу в России увеличиваются с каждым годом. Это согласуется с общемировыми тенденциями развития медицинской науки и практики: на фоне разработки и усложнения новейших лечебно-диагностических технологий возрастает значение традиционных средств и методов лечения, особенно в случаях длительно-протекающих и хронических заболеваний.

2. На сегодняшний день в России отсутствуют издания, содержащие данные системного анализа международной номенклатуры лекарственных растений и опыта стандартизации растительных лекарственных средств в свете гармонизации общемировых требований к оценке их качества.

* *англ.* multivariate analysis

† *англ.* discriminant function analysis

‡ *англ.* cluster analysis или clustering

§ *англ.* factor analysis

** *англ.* correlation analysis

†† *англ.* principal component analysis – PCA

Вместе с тем многие специалисты осознают важность и сложность стоящих задач по изучению химических составов лекарственных растений, оценке качества растительного сырья и фитопрепаратов, поэтому в контексте обсуждения данной проблематики следует упомянуть работы по идентификации характерных веществ (маркеров) и получении хроматографических профилей растительных композиций методами ГЖХ-МС и ВЭЖХ [117], оценки современного состояния исследований в области стандартизации ЛРС и фитопрепаратов [112, 113, 118] и разработки стандартов для анализа ЛРС [119]. Исследования, направленные на повышение уровня стандартизации и совершенствование фармакопейного анализа ЛРС, гармонизированных с требованиями зарубежных Фармакопей и Директивами ЕС отражены в работах [112, 120]. Отмечается важность разработки и совершенствования методов контроля качества ЛСРП, основанных на исследовании химического состава БАВ, и методик определения содержания различных групп БАВ с использованием современных инструментальных физико-химических методов.

Следует подчеркнуть, что за последние 20–30 лет в фармакогнозии и фитохимии произошли существенные изменения в инструментальном обеспечении изучения химического состава лекарственных растений и ЛРС. Это связано с появлением и использованием современных спектральных методов анализа и идентификации, которые требуют высокой квалификации исследователей. Формирование «досье» препарата для включения в Государственную Фармакопею требует тщательной систематизации и более детального анализа полученных данных.

В Российской Федерации выполняется множество оригинальных исследовательских работ в области изучения состава и свойств метаболитов лекарственных растений с использованием различных инструментальных методов.

К сожалению, следует отметить, что встречается немало работ, которые характеризуются совершенно недостаточным методологическим уровнем выполнения исследований без достаточного учета мировых достижений в этой сфере и далеко не всегда достаточно квалифицированным применением спектрально-аналитических приемов, не учитывающих их принципиальные ограничения, свойственные аналитическим методам. Большая часть результатов таких работ публикуется в научных журналах, непрофильных в отношении аналитических методов (изданиях медицинской, фармацевтической, химической или ботанической направленности), где отсутствует строгое рецензирование с критическим взглядом на аналитическую составляющую. Поэтому, несмотря на значительный объем публикуемых данных, появляется очень мало достоверных сведений, которые могли бы быть основой для разработки протоколов выполнения анализа растительного сырья и фитопрепаратов.

Итоги анализа

Очевидно, что для решения проблем в области анализа лекарственных растений требуется развивать системный подход и разработать хорошо продуманную методологию для идентификации и оценки подлинности растительного сырья. Разработка стандартизованных методов (протоколов) для растительных препаратов является очень сложной задачей и требует инновационных и научно-обоснованных подходов. ВОЗ подчеркивается важность качественных и количественных методов определения характеристик образцов, количественное определение биомаркеров и/или химических маркеров и хроматографических профилей («отпечатки пальцев») растительного сырья. Благодаря развитию современных спектрально-хроматографических методов, многие из имеющихся проблем в области анализа лекарственных растений можно решить. Для решения таких задач особенно эффективными являются современные прецизионные одномерные и двумерные, а также гибридные хроматографические и спектральные методы – ЯМР, ГХ, ГХ-МС, ГХ-МС/МС, ВЭЖХ, ВЭЖХ-МС, ВЭЖХ-МС/МС, ВЭЖХ-ЯМР-МС. Для успешного выполнения задач идентификации и оценки подлинности лекарственных растений необходимо создавать базы данных, аккумулирующие данные о маркерах и характеристических наборах метаболитов с их спектрально-хроматографическими характеристиками, стандартизованными методами (протоколами) пробоподготовки, выполнения анализов и идентификации. Такие базы данных могут быть частью единой интегрированной информационно-системы, содержащей электронные библиотеки по морфологическим характеристикам, биологической активности и другим данным по лекарственным растениям.

Список литературы

1. Zhang J., Wider B., Shang H., Li X., Ernst E. Quality of herbal medicines: Challenges and solutions // *Complementary Therapies in Medicine*. 2012. Vol. 20, N1–2. Pp. 100–106. DOI: 10.1016/j.ctim.2011.09.004.
2. Robinson M.M., Zhang X. The World Medicines Situation 2011 – Traditional Medicines: Global Situation, Issues and Challenges. 3rd ed. 2011. 14 p.
3. David B., Wolfender J.-L., Dias D.A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends // *Phytochemistry Reviews*. 2015. Vol. 14, N2. Pp. 299–315. DOI: 10.1007/s11101-014-9367-z.
4. Di Pierro F. Roles of chemical complexity and evolutionary theory in some hepatic and intestinal enzymatic systems in chemical reproducibility and clinical efficiency of herbal derivatives // *The Scientific World Journal*. 2014. Vol. 2014. Article ID 732045. DOI: dx.doi.org/10.1155/2014/732045.
5. Koehn F.E., Carter G.T. The evolving role of natural products in drug discovery // *Nature Reviews Drug Discovery*. 2005. Vol. 4, N3. Pp. 206–220. DOI: 10.1038/nrd1657.
6. McChesney J.D., Venkataraman S.K., Henri J.T. Plant natural products: Back to the future or into extinction? // *Phytochemistry*. 2007. Vol. 68, N14. Pp. 2015–2022. DOI: 10.1016/j.phytochem.2007.04.032.
7. Li J.W.-H., Vederas J.C. Drug discovery and natural products: End of an era or an endless frontier? // *Science*. 2009. Vol. 325, N5937. Pp. 161–165. DOI: 10.1126/science.1168243.
8. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety // *Frontiers in Pharmacology*. 2014. Vol. 4, P. 177. DOI: 10.3389/fphar.2013.00177.
9. Решетько О.В., Горшкова Н.В., Луцевич К.А., Семибратова А.М. Регуляторный статус и проблема безопасности средств растительного происхождения // *Ремедиум*. 2010. №5. С. 30–33.
10. Сидоренко В.С., Гроллман А., Жарков Д.О. Токсикологический детектив, или Дело балканской эндемичной нефропатии // *Наука из первых рук*. 2013. Т. 53–54. №5–6. С. 22–33.
11. WHO. Guidelines on Safety Monitoring of Herbal Medicines in Pharmacovigilance Systems. 2004. 82 p.
12. WHO. Guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants. 2003. 80 p.
13. Ткачев А.В. Исследование летучих веществ растений. Новосибирск, 2008. 969 с.
14. Ткачев А.В. Проблемы качественного и количественного анализа летучих веществ растений // *Химия растительного сырья*. 2017. №3. С. 5–37. DOI: 10.14258/jcprn.2017032712.
15. Ткачев А.В., Прокушева Д.Л., Домрачев Д.В. Дикорастущие эфирномасличные растения Южной Сибири. Новосибирск, 2017. 575 с.
16. Rajani M., Kanaki N.S. Phytochemical standardization of herbal drugs and polyherbal formulations // *Bioactive Molecules and Medicinal Plants*. Springer: Berlin-Heidelberg, 2008. Pp. 349–369. DOI: 10.1007/978-3-540-74603-4_19.
17. Mosihuzzaman M., Iqbal C.M. Protocols on safety, efficacy, standardization, and documentation of herbal medicine (IUPAC Technical Report) // *Pure and Applied Chemistry*. 2009. Vol. 80. Pp. 2195–2230. DOI: 10.1515/ci.2009.31.1.20b.
18. WHO. Quality control methods for medicinal plant materials. 1998. 115 p.
19. Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Vol. 1. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005.
20. Upton R., Graff A., Jolliffe G., Langer R., Williamson E. American Herbal Pharmacopoeia: botanical pharmacognosy – microscopic characterization of botanical medicines. CRC Press, 2011. 800 p.
21. German Pharmacopoeia (Deutsches Arzneibuch – DAB 2012).
22. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Изд. XIII: в 3 т. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.femb.ru/feml>.
23. Japanese Pharmacopoeia 17th Edition. English Translation. Yakuji Nippo Ltd., 2017.
24. The British Pharmacopoeia Commission Secretariat of the Medicines, Healthcare products Regulatory Agency (MHRA). British Pharmacopoeia. TSO (The Stationery Office), 2018.
25. European Pharmacopoeia Online. URL: <http://online.pheur.org/EN/entry.htm>.
26. Indian Pharmacopoeia Commission. Indian Pharmacopoeia 2018.
27. United States Pharmacopoeia 41 – National Formulary 36. 2018.
28. ГОСТ ISO 11024-1-2014. Масла эфирные. Общее руководство по хроматографическим профилям Ч. 1. Подготовка хроматографических профилей для представления в стандартах. М., 2015. 12 с.
29. ГОСТ ISO 11024-2-2015. Масла эфирные. Общее руководство по хроматографическим профилям Ч. 2. Применение хроматографических профилей проб эфирных масел. М., 2016. 10 с.
30. Johnson C.H., Nicholson J.K., Holmes E. The Handbook of Metabolomics and Metabolomics. Elsevier, 2007. 572 p.
31. Johnson C.H., Ivanisevic J., Benton H.P., Siuzdak G. Bioinformatics: the next frontier of metabolomics // *Analytical Chemistry*. 2015. Vol. 87, N1. Pp. 147–156. DOI: 10.1021/ac5040693.
32. Tawfik A.F., Viegelmann C., Edrada-Ebel R. Metabolomics and dereplication strategies in natural products // *Metabolomics Tools for Natural Product Discovery: Methods and Protocols*. Springer Science+Business Media, LLC., 2013. Pp. 227–244.
33. Robinette S.L., Brüscheweiler R., Schroeder F.C., Edison A.S. NMR in metabolomics and natural products research: two sides of the same coin // *Accounts of Chemical Research*. 2012. Vol. 45, N2. Pp. 288–297. DOI: 10.1021/ar2001606.
34. Sumner L.W., Mendes P., Dixon R.A. Plant metabolomics: large-scale phytochemistry in the functional genomics era // *Phytochemistry*. 2003. Vol. 62, N6. Pp. 817–836. DOI: 10.1016/S0031-9422(02)00708-2.

35. Krug D., Müller R. Secondary metabolomics: the impact of mass spectrometry-based approaches on the discovery and characterization of microbial natural products // *Natural Product Reports*. 2014. Vol. 31, N6. Pp. 768–783. DOI: 10.1039/C3NP70127A.
36. Jiang M., Jiao Y., Wang Y. Quantitative profiling of polar metabolites in herbal medicine injections for multivariate statistical evaluation based on independence principal component analysis // *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9. DOI: 10.1371/journal.pone.0105412.e105412.
37. Crockett S.L., Khan D.I.A. Challenges of standardization: marker compounds in plant species related and unrelated to top-selling herbs // *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*. 2003. Vol. 10, N3. Pp. 13–24. DOI: 10.1300/J044v10n03_03.
38. Joshi K., Chavan P., Warude D., Patwardhan B. Molecular markers in herbal drug technology // *Current Science*. 2004. Vol. 87, N2. Pp. 159–165.
39. Li S., Han Q., Qiao C., Song J., Lung Cheng C., Xu H. Chemical markers for the quality control of herbal medicines: an overview // *Chinese Medicine*. 2008. Vol. 3, N1. P. 7. DOI: 10.1186/1749-8546-3-7.
40. Li S., Zhao J., Yang B. Strategies for quality control of Chinese medicines // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011. Vol. 55, N4. Pp. 802–809. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.12.011.
41. Bensoussan A., Lee S., Murray C., Bouchier S., van der Kooy F., Pearson J., Liu J., Chang D., Khoo C. Choosing chemical markers for quality assurance of complex herbal medicines: Development and application of the herb MaRS criteria // *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2015. Vol. 97, N6. Pp. 628–640. DOI: 10.1002/cpt.100.
42. Drašar P., Moravcova J. Recent advances in analysis of Chinese medical plants and traditional medicines // *Journal of Chromatography B*. 2004. Vol. 812, N1–2. Pp. 3–21. DOI: 10.1002/(SICI)1099-0801(199803/04)12:2%3C78::AID-BMC726%3E3.0.CO;2-U.
43. Zeng Z., Chau F.-t., Chan H.-y., Cheung C.-y., Lau T.-y., Wei S., Mok D. K.-w., Chan C.-o., Liang Y. Recent advances in the compound-oriented and pattern-oriented approaches to the quality control of herbal medicines // *Chinese Medicine*. 2008. Vol. 3, N1. P. 9. DOI: 10.1186/1749-8546-3-9.
44. Sahoo N., Manchikanti P., Dey S. Herbal drugs: Standards and regulation // *Fitoterapia*. 2010. Vol. 81, N6. Pp. 462–471. DOI: 10.1016/j.fitote.2010.02.001.
45. Xie P., Chen S., Liang Y.-z., Wang X., Tian R., Upton R. Chromatographic fingerprint analysis – a rational approach for quality assessment of traditional Chinese herbal medicine // *Journal of Chromatography A*. 2006. Vol. 1112, N1. Pp. 171–180. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.12.091.
46. Jiang Y., David B., Tu P., Barbin Y. Recent analytical approaches in quality control of traditional Chinese medicines – A review // *Analytica Chimica Acta*. 2010. Vol. 657, N1. Pp. 9–18. DOI: 10.1016/j.aca.2009.10.024.
47. Liang Y.-Z., Xie P.-Z., Chan K. Perspective of chemical fingerprinting of Chinese herbs // *Planta Medica*. 2010. Vol. 76, N17. Pp. 1997–2003. DOI: 10.1055/s-0030-1250541.
48. Liu E.-H., Qi L.-W., Li K., Chu C., Li P. Recent advances in quality control of traditional Chinese medicines // *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*. 2010. Vol. 13, N10. Pp. 869–884. DOI: 10.2174/138620710793360301.
49. Bucar F., Wube A., Schmid M. Natural product isolation – how to get from biological material to pure compounds // *Natural Product Reports*. 2013. Vol. 30, N4. Pp. 525–545. DOI: 10.1039/C3NP20106F.
50. Charlton A., Allnut T., Holmes S., Chisholm J., Bean S., Ellis N., Mullineaux P., Oehlschlager S. NMR profiling of transgenic peas // *Plant Biotechnology Journal*. 2004. Vol. 2, N1. Pp. 27–35. DOI: 10.1046/j.1467-7652.2003.00045.x.
51. Holmes E., Tang H., Wang Y., Seger C. The assessment of plant metabolite profiles by NMR-based methodologies // *Planta Medica*. 2006. Vol. 72, N9. Pp. 771–785. DOI: 10.1055/s-2006-946682.
52. Kortensniemi M., Slupsky C.M., Ollikka T., Kauko L., Spevacek A.R., Sjövall O., Yang B., Kallio H. NMR profiling clarifies the characterization of Finnish honeys of different botanical origins // *Food Research International*. 2016. Vol. 86. Pp. 83–92. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.05.014.
53. Forim M.R., Perlatti B., Costa E.S., Magnani R.F., de Souza G.D. Concerns and considerations about the quality control of natural products using chromatographic methods // *Current Chromatography*. 2015. Vol. 2, N1. Pp. 20–31. DOI: 10.2174/2213240601666141113212732.
54. Giri L., Andola H.C., Purohit V.K., Rawat M.S.M., Rawal R.S., Bhatt I.D. Chromatographic and spectral fingerprinting standardization of traditional medicines: an overview as modern tools // *Research Journal of Phytochemistry*. 2010. Vol. 4, N4. Pp. 234–241. DOI: 10.3923/rjphyto.2010.234.241.
55. Tistaert C. and Dejaegher B., Heyden Y.V. Chromatographic separation techniques and data handling methods for herbal fingerprints: A review // *Analytica Chimica Acta*. 2011. Vol. 690, N2. Pp. 148–161. DOI: 10.1016/j.aca.2011.02.023.
56. Joshi D. *Herbal drugs and fingerprints*. Evidence based herbal drugs. Springer, 2012. 252 p.
57. Wu H., Guo J., Chen S., Liu X., Zhou Y., Zhang X., Xu X. Recent developments in qualitative and quantitative analysis of phytochemical constituents and their metabolites using liquid chromatography–mass spectrometry // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2013. Vol. 72. Pp. 267–291. DOI: 10.1016/j.jpba.2012.09.004.
58. Ernst M., Silva D.B., Silva R.R., Vencio R.Z.N., Lopes N.P. Mass spectrometry in plant metabolomics strategies: from analytical platforms to data acquisition and processing // *Natural Product Reports*. 2014. Vol. 31, N6. Pp. 784–806. DOI: 10.1039/c3np70086k.

59. Gika H.G., Wilson I.D., Theodoridis G.A. LC–MS-based holistic metabolic profiling. Problems, limitations, advantages, and future perspectives // *Journal of Chromatography B*. 2014. Vol. 966. Pp. 1–6. DOI: 10.1016/j.jchromb.2014.01.054.
60. Wolfender J.-L., Marti G., Thomas A., Bertrand S. Current approaches and challenges for the metabolite profiling of complex natural extracts // *Journal of Chromatography A*. 2015. Vol. 1382. Pp. 136–164. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.10.091.
61. Hubert J., Nuzillard J.-M., Renault J.-H. Dereplication strategies in natural product research: How many tools and methodologies behind the same concept? // *Phytochemistry Reviews*. 2017. Vol. 16, N1. Pp. 55–95. DOI: 10.1007/s11101-015-9448-7.
62. WHO Regional Office for Western Pacific. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. 1993. 84 p.
63. Liang Y.-Z., Xie P., Chan K. Quality control of herbal medicines // *Journal of Chromatography B*. 2004. Vol. 812, N1–2. Pp. 53–70. DOI: 10.1016/j.jchromb.2004.08.041.
64. Alaerts G., Dejaegher B., Smeyers-Verbeke J., Heyden Y.V. Recent developments in chromatographic fingerprints from herbal products: set-up and data analysis // *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*. 2010. Vol. 13, N10. Pp. 900–922. DOI: 10.2174/138620710793360284.
65. Gika H.G., Theodoridis G.A., Plumb R.S., Wilson I.D. Current practice of liquid chromatography–mass spectrometry in metabolomics and metabonomics // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2014. Vol. 87. Pp. 12–25. DOI: 10.1016/j.jpba.2013.06.032.
66. Steinmann D., Ganzera M. Recent advances on HPLC/MS in medicinal plant analysis // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011. Vol. 55, N4. Pp. 744–757. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.11.015.
67. García-Pérez I., Vallejo M., García A., Legido-Quigley C., Barbas C. Metabolic fingerprinting with capillary electrophoresis // *Journal of Chromatography A*. 2008. Vol. 1204, N2. Pp. 130–139. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.07.025.
68. Gotti R. Capillary electrophoresis of phytochemical substances in herbal drugs and medicinal plants // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011. Vol. 55, N4. Pp. 775–801. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.11.041.
69. Rabanes H.R., Guidote A.M., Quirino J.P. Capillary electrophoresis of natural products: Highlights of the last five years (2006–2010) // *Electrophoresis*. 2012. Vol. 33, N1. Pp. 180–195. DOI: 10.1002/elps.201100223.
70. Kopka J., Fernie A., Weckwerth W., Gibon Y., Stitt M. Metabolite profiling in plant biology: platforms and destinations // *Genome Biology*. 2004. Vol. 5, N6. P. 109. DOI: 10.1186/gb-2004-5-6-109.
71. Covington B.C., McLean J.A., Bachmann B.O. Comparative mass spectrometry-based metabolomics strategies for the investigation of microbial secondary metabolites // *Natural Product Reports*. 2017. Vol. 34, N1. Pp. 6–24. DOI: 10.1039/c6np00048g.
72. Wang M., Carver J.J., Phelan V.V. et al. Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking // *Nat Biotech*. 2016. Vol. 34, N8. Pp. 828–837. DOI: 10.1038/nbt.3597.
73. Wohlgemuth G., Mehta S.S., Mejia R.F. et al. SPLASH, a hashed identifier for mass spectra // *Nat Biotech*. 2016. Vol. 34, N11. Pp. 1099–1101. DOI: 10.1038/nbt.3689.
74. Ratcliffe R.G., Roscher A., Shachar-Hill Y. Plant NMR spectroscopy // *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. 2001. Vol. 39, N4. Pp. 267–300. DOI: 10.1016/j.pnmrs.2017.05.001.
75. Lerche M.H., Jensen P.R., Karlsson M., Meier S. NMR insights into the inner workings of living cells // *Analytical Chemistry*. 2015. Vol. 87, N1. Pp. 119–132. DOI: 10.1021/ac501467x.
76. Krishnan P., Kruger N.J., Ratcliffe R.G. Metabolite fingerprinting and profiling in plants using NMR // *Journal of Experimental Botany*. 2005. Vol. 56, N410. Pp. 255–265. DOI: 10.1093/jxb/eri010.
77. Colquhoun I.J. Use of NMR for metabolic profiling in plant systems // *Journal of Pesticide Science*. 2007. Vol. 32, N3. Pp. 200–212. DOI: 10.1584/jpestics.R07-03.
78. Kim H.K., Choi Y.H., Verpoorte R. NMR-based metabolomic analysis of plants // *Nature Protocols*. 2010. Vol. 5. Pp. 536–549. DOI: 10.1038/nprot.2009.237.
79. Bligny R., Douce R. NMR and plant metabolism // *Current Opinion in Plant Biology*. 2001. Vol. 4, N3. Pp. 191–196. DOI: 10.1016/S1369-5266(00)00160-6.
80. Eisenreich W., Bacher A. Advances of high-resolution NMR techniques in the structural and metabolic analysis of plant biochemistry // *Phytochemistry*. 2007. Vol. 68, N22. Pp. 2799–2815. DOI: 10.1016/j.phytochem.2007.09.028.
81. Bailey N.J.C., Oven M., Holmes E., Zenk M.H., Nicholson J.K. An NMR-based metabolomic approach to the analysis of the effects of xenobiotics on endogenous metabolite levels in plants // *Spectroscopy*. 2004. Vol. 18, N2. Pp. 279–287. DOI: 10.1155/2004/862164.
82. Gowda G.N., Rafferty D. Can NMR solve some significant challenges in metabolomics? // *Journal of Magnetic Resonance*. 2015. Vol. 260. Pp. 144–160. DOI: 10.1016/j.jmr.2015.07.014.
83. Pauli G.F. qNMR – a versatile concept for the validation of natural product reference compounds // *Phytochemical Analysis*. 2001. Vol. 12, N1. Pp. 28–42. DOI: 10.1002/1099-1565(200101/02)12:1%3C28::AID-PCA549%3E3.0.CO;2-D.
84. Wishart D.S. Quantitative metabolomics using NMR // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2008. Vol. 27, N3. Pp. 228–237. DOI: 10.1016/j.trac.2007.12.001.
85. Barding G.A., Salditos R., Larive C.K. Quantitative NMR for bioanalysis and metabolomics // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2012. Vol. 404, N4. Pp. 1165–1179. DOI: 10.1007/s00216-012-6188-z.

86. Pauli G.F., Chen S.-N., Simmler C., Lankin D.C., Gödecke T., Jaki B.U., Friesen J.B., McAlpine J.B., Napolitano J.G. Importance of purity evaluation and the potential of quantitative ^1H NMR as a purity assay // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2014. Vol. 57, N22. Pp. 9220–9231. DOI: 10.1021/jm500734a.
87. Singh S., Roy R. The application of absolute quantitative ^1H NMR spectroscopy in drug discovery and development // *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2016. Vol. 11, N7. Pp. 695–706. DOI: 10.1080/17460441.2016.1189899.
88. Chauthe S.K., Sharma R.J., Aqil F., Gupta R.C., Singh I.P. Quantitative NMR: an applicable method for quantitative analysis of medicinal plant extracts and herbal products // *Phytochemical Analysis*. 2012. Vol. 23, N6. Pp. 689–696. DOI: 10.1002/pca.2375.
89. Simmler C., Napolitano J.G., McAlpine J.B., Chen S.-N., Pauli G.F. Universal quantitative NMR analysis of complex natural samples // *Current Opinion in Biotechnology*. 2014. Vol. 25. Pp. 51–59. DOI: 10.1016/j.copbio.2013.08.004.
90. Mo H., Harwood J., Zhang S., Xue Y., Santini R., Raftery D. R. A quantitative measure of NMR signal receiving efficiency // *Journal of Magnetic Resonance*. 2009. Vol. 200, N2. Pp. 239–244. DOI: 10.1016/j.jmr.2009.07.004.
91. Mo H., Raftery D. Solvent signal as an NMR concentration reference // *Analytical Chemistry*. 2008. Vol. 80, N24. Pp. 9835–9839. DOI: 10.1021/ac801938j.
92. Xia J., Bjorn Dahl T.C., Tang P., Wishart D.S. MetaboMiner – semi-automated identification of metabolites from 2D NMR spectra of complex biofluids // *BMC Bioinformatics*. 2008. Vol. 9, N1. P. 507. DOI: 10.1186/1471-2105-9-507.
93. Larive C.K., Barding G.A., Dinges M.M. NMR spectroscopy for metabolomics and metabolic profiling // *Analytical Chemistry*. 2015. Vol. 87, N1. Pp. 133–146. DOI: 10.1021/ac504075g.
94. Nagana Gowda G.A., Raftery D. Recent advances in NMR-based metabolomics // *Analytical Chemistry*. 2017. Vol. 89, N1. Pp. 490–510. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b04420.
95. Smolinska A., Blanchet L., Buydens L.M., Wijmenga S.S. NMR and pattern recognition methods in metabolomics: From data acquisition to biomarker discovery: A review // *Analytica Chimica Acta*. 2012. Vol. 750. Pp. 82–97. DOI: 10.1016/j.aca.2012.05.049.
96. Mercier P., Lewis M.J., Chang D., Baker D., Wishart D.S. Towards automatic metabolomic profiling of high-resolution one-dimensional proton NMR spectra // *Journal of Biomolecular NMR*. 2011. Vol. 49, N3. Pp. 307–323. DOI: 10.1007/s10858-011-9480-x.
97. Kim H.K., Choi Y.H., Verpoorte R. NMR-based plant metabolomics: where do we stand, where do we go? // *Trends in Biotechnology*. 2011. Vol. 29, N6. Pp. 267–275. DOI: 10.1016/j.tibtech.2011.02.001.
98. Kumar D. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy for metabolic profiling of medicinal plants and their products // *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2016. Vol. 46, N5. Pp. 400–412. DOI: 10.1080/10408347.2015.1106932.
99. Markley J., Brüschweiler R., Edison A., Eghbalnia H., Powers R., Raftery D., Wishart D. The future of NMR-based metabolomics // *Current Opinion in Biotechnology*. 2017. Vol. 43. Pp. 34–40. DOI: 10.1016/j.copbio.2016.08.001.
100. Bingol K., Brüschweiler R. Two elephants in the room: new hybrid nuclear magnetic resonance and mass spectrometry approaches for metabolomics // *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2015. Vol. 18, N5. Pp. 471–477. DOI: 10.1097/IMCO.0000000000000206.
101. Bingol K., Brüschweiler-Li L., Yu C., Somogyi A., Zhang F., Brüschweiler R. Metabolomics beyond spectroscopic databases: A combined MS/NMR strategy for the rapid identification of new metabolites in complex mixtures // *Analytical Chemistry*. 2015. Vol. 87, N7. Pp. 3864–3870. DOI: 10.1021/ac504633z.
102. Sarker S.D., Nahar L. Hyphenated techniques // *Natural Products Isolation*. Humana Press. 2005. Pp. 233–267. DOI: 10.4103/2F2229-4708.72222.
103. Hyphenated techniques in pharmaceutical and biomedical analysis. Special Issue, edited by B. Chankvetadze // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006. Vol. 40, N3. Pp. 491–804.
104. Wolfender J.-L., Ndjoko K., Hostettmann K. Liquid chromatography with ultraviolet absorbance–mass spectrometric detection and with nuclear magnetic resonance spectrometry: a powerful combination for the on-line structural investigation of plant metabolites // *Journal of Chromatography A*. 2003. Vol. 1000, N1. Pp. 437–455. DOI: 10.1016/S0021-9673(03)00303-0.
105. Elipe M.V.S. Advantages and disadvantages of nuclear magnetic resonance spectroscopy as a hyphenated technique // *Analytica Chimica Acta*. 2003. Vol. 497, N1. Pp. 1–25. DOI: 10.1016/j.aca.2003.08.048.
106. Allard P.-M., Genta-Jouve G., Wolfender J.-L. Deep metabolome annotation in natural products research: towards a virtuous cycle in metabolite identification // *Current Opinion in Chemical Biology*. 2017. Vol. 36. Pp. 40–49. DOI: 10.1016/j.aca.2003.08.048.
107. Yang Z. Online hyphenated liquid chromatography–nuclear magnetic resonance spectroscopy–mass spectrometry for drug metabolite and nature product analysis // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006. Vol. 40, N3. Pp. 516–527. DOI: 10.1016/j.jpba.2005.10.002.
108. Katajamaa M., Orešič M. Data processing for mass spectrometry-based metabolomics // *Journal of Chromatography A*. 2007. Vol. 1158, N1–2. Pp. 318–328. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.04.021.
109. De Iorio M., Ebbels T.M.D., Stephens, D.A. Statistical techniques in metabolic profiling // *Handbook of Statistical Genetics*. John Wiley & Sons, Ltd. 2008. Pp. 347–373. DOI: 10.1002/9780470061619.ch11.
110. Chagoyen M., Pazos F. Tools for the functional interpretation of metabolomics experiments // *Briefings in Bioinformatics*. 2013. Vol. 14, N6. Pp. 737–744. DOI: 10.1093/bib/bbs055.
111. Worley B., Powers R. Multivariate analysis in metabolomics // *Current Metabolomics*. 2013. Vol. 1, N1. Pp. 92–107. DOI: 10.2174/2F2213235X11301010092.

112. Евдокимова О.В. Разработка методологии стандартизации и контроля качества средств растительного происхождения (гармонизация, унификация, валидация): дисс. ... д-ра фарм. наук. М., 2012. 338 с.
113. Куркин В.А. Фармакогнозия. Самара, 2004. 1180 с.
114. Черкашина Е.В. Экономика и организация рационального использования и охраны земель эфиромасличной и лекарственной отрасли в Российской Федерации: дисс. ... д-ра эконом. наук. М., 2014. 419 с.
115. Сложная ситуация с лекарственными растениями в мире отразится и на российской фармотрасли // Фармацевтический вестник. 2009. №5 (537) (от 10 февраля). URL: <https://pharmvestnik.ru/publs/staryj-argiv-gazety/12027.html>.
116. Киселева Т.Л., Смирнова Ю.А. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества. М., 2009. 295 с.
117. Зенкевич И.Г., Пименов А.И., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Макаров В.Г. Сравнение хроматографических профилей как метод идентификации компонентов лекарственного растительного сырья в комплексных препаратах // Растительные ресурсы. 2003. Т. 39. №3. С. 143–152.
118. Шемерянкина Т.Б., Сокольская Т.А., Даргаева Т.Д. Требования к стандартизации лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов на его основе // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2010. №3. С. 9–12.
119. Сокольская Т.А., Даргаева Т.Д., Шемерянкина Т.Б. Роль стандартов в фармакопейном анализе лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2009. №3. С. 10–13.
120. Баландина И.А. Совершенствование принципов и методов фармакопейного анализа в системе стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных средств на его основе: дисс. ... доктора фарм. наук. М., 2004. 304 с.

Поступила в редакцию 16 апреля 2018 г.

После доработки 18 июня 2018 г.

Принята к публикации 18 июня 2018 г.

Для цитирования: Морозов С.В., Ткачева Н.И., Ткачев А.В. Проблемы комплексного химического профилирования лекарственных растений // Химия растительного сырья. 2018. №4. С. 5–28. DOI: 10.14258/jscrpm.2018044003.

Morozov S.V.^{1,2}, Tkacheva N.I.¹, Tkachev A.V.^{1,2*} PROBLEMS OF COMPREHENSIVE CHEMICAL PROFILING OF MEDICINAL PLANTS

¹N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (NIOCH SB RAS), pr. Lavrentieva, 9, Novosibirsk, 630090 (Russia)

²Novosibirsk State University, ul. Pirogova, 2, Novosibirsk, 630090 (Russia) e-mail: atkachev@nioch.nsc.ru

Interest and attention to phytotherapy in Russia are increasing every year, which is consistent with global trends. Ensuring the growing demand inevitably leads to the appearance of phytopreparations of low quality and efficiency, and sometimes to a complete falsification of plant raw materials and preparations from it. Therefore, the pharmaceutical safety and quality of plant raw materials, herbal preparations and medicines from plant raw materials are among the most important problems in the field of medicine, biomedicine, pharmacognosy and phytochemistry. The review considers modern methodological approaches to solving problems of the problems mentioned, various concepts of identification, evaluation of the authenticity and quality control of herbal medicines using markers of various types and instrumental methods of chromatographic profiling (one of the methods of metabolic research) of plant compositions, spectral and hyphenated methods used to solve these problems, the issues of standardization of plant raw materials, drugs in and medicines based on it, the world experience in solving problems of assessing the quality of plant raw materials and phytopreparations and the state of research in Russia.

Keywords: medicinal plants, pharmacognosy, chemical markers, chromatographic profiles, spectral profiles, identification, metabolomics, pharmaceutical safety

References

1. Zhang J., Wider B., Shang H., Li X., Ernst E. *Complementary Therapies in Medicine*, 2012, vol. 20, no. 1–2, pp. 100–106. DOI: 10.1016/j.ctim.2011.09.004.
2. Robinson M.M., Zhang X. *The World Medicines Situation 2011 – Traditional Medicines: Global Situation, Issues and Challenges*. 3rd ed. 2011. 14 p.
3. David B., Wolfender J.-L., Dias D.A. *Phytochemistry Reviews*, 2015, vol. 14, no. 2, pp. 299–315. DOI: 10.1007/s11101-014-9367-z.
4. Di Pierro F. *The Scientific World Journal*, 2014, vol. 2014, article ID 732045. DOI: dx.doi.org/10.1155/2014/732045.
5. Koehn F.E., Carter G.T. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2005, vol. 4, no. 3, pp. 206–220. DOI: 10.1038/nrd1657.
6. McChesney J.D., Venkataraman S.K., Henri J.T. *Phytochemistry*, 2007, vol. 68, no. 14, pp. 2015–2022. DOI: 10.1016/j.phytochem.2007.04.032.
7. Li J.W.-H., Vederas J.C. *Science*, 2009, vol. 325, no. 5937, pp. 161–165. DOI: 10.1126/science.1168243.
8. Ekor M. *Frontiers in Pharmacology*, 2014, vol. 4, p. 177. DOI: 10.3389/fphar.2013.00177.
9. Reshetko O.V., Gorshkova N.V., Lutsevich K.A., Semibratova A.M. *Remedium*, 2010, no. 5, pp. 30–33. (in Russ.).
10. Sidorenko V.S., Grollman A., Zharkov D.O. *Nauka iz pervykh ruk*, 2013, vol. 53–54, no. 5–6, pp. 22–33. (in Russ.).
11. WHO. *Guidelines on Safety Monitoring of Herbal Medicines in Pharmacovigilance Systems*. 2004. 82 p.
12. WHO. *Guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants*. 2003. 80 p.
13. Tkachev A.V. *Issledovanie letuchikh veshchestv rastenii*. [Research on plant volatiles]. Novosibirsk, 2008, 969 p. (in Russ.).
14. Tkachev A.V. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2017, no. 3, pp. 5–37. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2017032712.
15. Tkachev A.V., Prokusheva D.L., Domrachev D.V. *Dikorastushchie efirnomaslichnye rasteniia Iuzhnoi Sibiri*. [Wild essential oil plants of Southern Siberia]. Novosibirsk, 2017, 575 p. (in Russ.).
16. Rajani M., Kanaki N.S. *Bioactive Molecules and Medicinal Plants*, Springer: Berlin-Heidelberg, 2008, pp. 349–369. DOI: 10.1007/978-3-540-74603-4_19.
17. Mosihuzzaman M., Iqbal C.M. *Pure and Applied Chemistry*, 2009, vol. 80, pp. 2195–2230. DOI: 10.1515/ci.2009.31.1.20b
18. WHO. *Quality control methods for medicinal plant materials*. 1998. 115 p.
19. Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, vol. 1, Beijing: People's Medical Publishing House, 2005.
20. Upton R., Graff A., Jolliffe G., Langer R., Williamson E. *American Herbal Pharmacopoeia: botanical pharmacognosy – microscopic characterization of botanical medicines*, CRC Press, 2011, 800 p.
21. *German Pharmacopoeia* (Deutsches Arzneibuch – DAB 2012).
22. *Gosudarstvennaia Farmakopeia Rossiiskoi Federatsii. Izdanie XIII v 3 tomakh* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Edition XIII in 3 volumes]. [Electronic resource]. URL: <http://www.femb.ru/feml>. (in Russ.).
23. *Japanese Pharmacopoeia 17th Edition. English Translation*. Yakuji Nippo Ltd., 2017.
24. *The British Pharmacopoeia Commission Secretariat of the Medicines, Healthcare products Regulatory Agency (MHRA). British Pharmacopoeia*. TSO (The Stationery Office), 2018.
25. *European Pharmacopoeia Online*. URL: <http://online.phEur.org/EN/entry.htm>.
26. *Indian Pharmacopoeia Commission. Indian Pharmacopoeia*, 2018.
27. *United States Pharmacopoeia 41 – National Formulary 36*. 2018.
28. *GOST ISO 11024-1-2014. Masla efirnye. Obshchee rukovodstvo po khromatograficheskim profiliam Ch. 1. Podgotovka khromatograficheskikh profilei dlia predstavleniia v standartakh*. [GOST ISO 11024-1-2014. Essential oils. General guidance on chromatographic profiles Part 1. Preparation of chromatographic profiles for presentation in standards]. Moskva, 2015, 12 p. (in Russ.).

* Corresponding author.

29. GOST ISO 11024-2-2015. *Masla efirnye. Obshchee rukovodstvo po khromatograficheskim profiliam Ch. 2. Pri-menenie khromatograficheskikh profilei prob efirnykh masel.* [GOST ISO 11024-2-2015. Essential oils. General guidance on chromatographic profiles. Part 2. Application of chromatographic profiles of samples of essential oils]. Moskva, 2016, 10 p. (in Russ.)
30. Lindon J.C., Nicholson J.K., Holmes E. *The Handbook of Metabonomics and Metabolomics.* Elsevier, 2007. 572 p.
31. Johnson C.H., Ivanisevic J., Benton H.P., Siuzdak G. *Analytical Chemistry*, 2015, vol. 87, no. 1, pp. 147–156. DOI: 10.1021/ac5040693.
32. Tawfike A.F., Viegelmann C., Edrada-Ebel R. *Metabolomics Tools for Natural Product Discovery: Methods and Protocols*, Springer Science+Business Media, LLC., 2013, pp. 227–244.
33. Robinette S.L., Brüscheweiler R., Schroeder F.C., Edison A.S. *Accounts of Chemical Research*, 2012, vol. 45, no. 2, pp. 288–297. DOI: 10.1021/ar2001606.
34. Sumner L.W., Mendes P., Dixon R.A. *Phytochemistry*, 2003, vol. 62, no. 6, pp. 817–836. DOI: 10.1016/S0031-9422(02)00708-2.
35. Krug D., Müller R. *Natural Product Reports*, 2014, vol. 31, no. 6, pp. 768–783. DOI: 10.1039/C3NP70127A.
36. Jiang M., Jiao Y., Wang Y. *PLoS ONE*, 2014, vol. 9, DOI: 10.1371/journal.pone.0105412.e105412.
37. Crockett S.L., Khan D.I.A. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 2003, vol. 10, no. 3, pp. 13–24. DOI: 10.1300/J044v10n03_03.
38. Joshi K., Chavan P., Warude D., Patwardhan B. *Current Science*, 2004, vol. 87, no. 2, pp. 159–165.
39. Li S., Han Q., Qiao C., Song J., Lung Cheng C., Xu H. *Chinese Medicine*, 2008, vol. 3, no. 1, p. 7. DOI: 10.1186/1749-8546-3-7.
40. Li S., Zhao J., Yang B. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2011, vol. 55, no. 4, pp. 802–809. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.12.011.
41. Bensoussan A., Lee S., Murray C., Bourchier S., van der Kooy F., Pearson J., Liu J., Chang D., Khoo C. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2015, vol. 97, no. 6, pp. 628–640. DOI: 10.1002/cpt.100.
42. Drašar P., Moravcova J. *Journal of Chromatography B*, 2004, vol. 812, no. 1–2, pp. 3–21. DOI: 10.1002/(SICI)1099-0801(199803/04)12:2%3C78::AID-BMC726%3E3.0.CO;2-U.
43. Zeng Z., Chau F.-t., Chan H.-y., Cheung C.-y., Lau T.-y., Wei S., Mok D. K.-w., Chan C.-o., Liang Y. *Chinese Medicine*, 2008, vol. 3, no. 1, p. 9. DOI: 10.1186/1749-8546-3-9.
44. Sahoo N., Manchikanti P., Dey S. *Fitoterapia*, 2010, vol. 81, no. 6, pp. 462–471. DOI: 10.1016/j.fitote.2010.02.001.
45. Xie P., Chen S., Liang Y.-z., Wang X., Tian R., Upton R. *Journal of Chromatography A*, 2006, vol. 1112, no. 1, pp. 171–180. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.12.091.
46. Jiang Y., David B., Tu P., Barbin Y. *Analytica Chimica Acta*, 2010, vol. 657, no. 1, pp. 9–18. DOI: 10.1016/j.aca.2009.10.024.
47. Liang Y.-Z., Xie P.-Z., Chan K. *Planta Medica*, 2010, vol. 76, no. 17, pp. 1997–2003. DOI: 10.1055/s-0030-1250541.
48. Liu E.-H., Qi L.-W., Li K., Chu C., Li P. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2010, vol. 13, no. 10, pp. 869–884.
49. Bucar F., Wube A., Schmid M. *Natural Product Reports*, 2013, vol. 30, no. 4, pp. 525–545. DOI: 10.1039/C3NP20106F.
50. Charlton A., Allnut T., Holmes S., Chisholm J., Bean S., Ellis N., Mullineaux P., Oehlschlager S. *Plant Biotechnology Journal*, 2004, vol. 2, no. 1, pp. 27–35. DOI: 10.1046/j.1467-7652.2003.00045.x.
51. Holmes E., Tang H., Wang Y., Seger C. *Planta Medica*, 2006, vol. 72, no. 9, pp. 771–785. DOI: 10.1055/s-2006-946682.
52. Kortensniemi M., Slupsky C.M., Ollikka T., Kauko L., Spevacek A.R., Sjövall O., Yang B., Kallio H. *Food Research International*, 2016, vol. 86, pp. 83–92. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.05.014.
53. Forim M.R., Perlati B., Costa E.S., Magnani R.F., de Souza G.D. *Current Chromatography*, 2015, vol. 2, no. 1, pp. 20–31. DOI: 10.2174/2213240601666141113212732.
54. Giri L., Andola H.C., Purohit V.K., Rawat M.S.M., Rawal R.S., Bhatt I.D. *Research Journal of Phytochemistry*, 2010, vol. 4, no. 4, pp. 234–241. DOI: 10.3923/rjphyto.2010.234.241.
55. Tistaert C. amd Dejaegher B., Heyden Y.V. *Analytica Chimica Acta*, 2011, vol. 690, no. 2, pp. 148–161. DOI: 10.1016/j.aca.2011.02.023.
56. Joshi D. *Herbal drugs and fingerprints. Evidence based herbal drugs*, Springer, 2012, 252 p.
57. Wu H., Guo J., Chen S., Liu X., Zhou Y., Zhang X., Xu X. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013, vol. 72, pp. 267–291. DOI: 10.1016/j.jpba.2012.09.004.
58. Ernst M., Silva D.B., Silva R.R., Vencio R.Z.N., Lopes N.P. *Natural Product Reports*, 2014, vol. 31, no. 6, pp. 784–806. DOI: 10.1039/c3np70086k.
59. Gika H.G., Wilson I.D., Theodoridis G.A. *Journal of Chromatography B*, 2014, vol. 966, pp. 1–6. DOI: 10.1016/j.jchromb.2014.01.054.
60. Wolfender J.-L., Marti G., Thomas A., Bertrand S. *Journal of Chromatography A*, 2015, vol. 1382, pp. 136–164. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.10.091.
61. Hubert J., Nuzillard J.-M., Renault J.-H. *Phytochemistry Reviews*, 2017, vol. 16, no. 1, pp. 55–95. DOI: 10.1007/s11101-015-9448-7.
62. WHO Regional Office for Western Pacific. *Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines*, 1993, 84 p.

63. Liang Y.-Z., Xie P., Chan K. *Journal of Chromatography B*, 2004, vol. 812, no. 1–2, pp. 53–70. DOI: 10.1016/j.jchromb.2004.08.041.
64. Alaerts G., Dejaegher B., Smeyers-Verbeke J., Heyden Y.V. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2010, vol. 13, no. 10, pp. 900–922. DOI: 10.2174/138620710793360284.
65. Gika H.G., Theodoridis G.A., Plumb R.S., Wilson I.D. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2014, vol. 87, pp. 12–25. DOI: 10.1016/j.jpba.2013.06.032.
66. Steinmann D., Ganzera M. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2011, vol. 55, no. 4, pp. 744–757. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.11.015.
67. García-Pérez I., Vallejo M., García A., Legido-Quigley C., Barbas C. *Journal of Chromatography A*, 2008, vol. 1204, no. 2, pp. 130–139. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.07.025.
68. Gotti R. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2011, vol. 55, no. 4, pp. 775–801. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.11.041.
69. Rabanes H.R., Guidote A.M., Quirino J.P. *Electrophoresis*, 2012, vol. 33, no. 1, pp. 180–195. DOI: 10.1002/elps.201100223.
70. Kopka J., Fernie A., Weckwerth W., Gibon Y., Stitt M. *Genome Biology*, 2004, vol. 5, no. 6, p. 109. DOI: 10.1186/gb-2004-5-6-109.
71. Covington B.C., McLean J.A., Bachmann B.O. *Natural Product Reports*, 2017, vol. 34, no. 1, pp. 6–24. DOI: 10.1039/c6np00048g.
72. Wang M., Carver J.J., Phelan V.V. et al. *Nat Biotech.*, 2016, vol. 34, no. 8, pp. 828–837. DOI: 10.1038/nbt.3597
73. Wohlgemuth G., Mehta S.S., Mejia R.F. et al. *Nat Biotech.*, 2016, vol. 34, no. 11, pp. 1099–1101. DOI: 10.1038/nbt.3689.
74. Ratcliffe R.G., Roscher A., Shachar-Hill Y. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2001, vol. 39, no. 4, pp. 267–300. DOI: 10.1016/j.pnmrs.2017.05.001.
75. Lerche M.H., Jensen P.R., Karlsson M., Meier S. *Analytical Chemistry*, 2015, vol. 87, no. 1, pp. 119–132. DOI: 10.1021/ac501467x.
76. Krishnan P., Kruger N.J., Ratcliffe R.G. *Journal of Experimental Botany*, 2005, vol. 56, no. 410, pp. 255–265. DOI: 10.1093/jxb/eri010.
77. Colquhoun I.J. *Journal of Pesticide Science*, 2007, vol. 32, no. 3, pp. 200–212. DOI: 10.1584/jpestics.R07-03.
78. Kim H.K., Choi Y.H., Verpoorte R. *Nature Protocols*, 2010, vol. 5, pp. 536–549. DOI: 10.1038/nprot.2009.237.
79. Bligny R., Douce R. *Current Opinion in Plant Biology*, 2001, vol. 4, no. 3, pp. 191–196. DOI: 10.1016/S1369-5266(00)00160-6.
80. Eisenreich W., Bacher A. *Phytochemistry*, 2007, vol. 68, no. 22, pp. 2799–2815. DOI: 10.1016/j.phytochem.2007.09.028.
81. Bailey N.J.C., Oven M., Holmes E., Zenk M.H., Nicholson J.K. *Spectroscopy*, 2004, vol. 18, no. 2, pp. 279–287. DOI: 10.1155/2004/862164.
82. Gowda G.N., Raftery D. *Journal of Magnetic Resonance*, 2015, vol. 260, pp. 144–160. DOI: 10.1016/j.jmr.2015.07.014.
83. Pauli G.F. *Phytochemical Analysis*, 2001, vol. 12, no. 1, pp. 28–42. DOI: 10.1002/1099-1565(200101/02)12:1%3C28::AID-PCAS49%3E3.0.CO;2-D.
84. Wishart D.S. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2008, vol. 27, no. 3, pp. 228–237. DOI: 10.1016/j.trac.2007.12.001.
85. Barding G.A., Salditos R., Larive C.K. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, vol. 404, no. 4, pp. 1165–1179. DOI: 10.1007/s00216-012-6188-z.
86. Pauli G.F., Chen S.-N., Simmler C., Lankin D.C., Gödecke T., Jaki B.U., Friesen J.B., McAlpine J.B., Napolitano J.G. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, vol. 57, no. 22, pp. 9220–9231. DOI: 10.1021/jm500734a.
87. Singh S., Roy R. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2016, vol. 11, no. 7, pp. 695–706. DOI: 10.1080/17460441.2016.1189899.
88. Chauthé S.K., Sharma R.J., Aqil F., Gupta R.C., Singh I.P. *Phytochemical Analysis*, 2012, vol. 23, no. 6, pp. 689–696. DOI: 10.1002/pca.2375.
89. Simmler C., Napolitano J.G., McAlpine J.B., Chen S.-N., Pauli G.F. *Current Opinion in Biotechnology*, 2014, vol. 25, pp. 51–59. DOI: 10.1016/j.copbio.2013.08.004.
90. Mo H., Harwood J., Zhang S., Xue Y., Santini R., Raftery D. *Journal of Magnetic Resonance*, 2009, vol. 200, no. 2, pp. 239–244. DOI: 10.1016/j.jmr.2009.07.004.
91. Mo H., Raftery D. *Analytical Chemistry*, 2008, vol. 80, no. 24, pp. 9835–9839. DOI: 10.1021/ac801938j.
92. Xia J., Bjorndahl T.C., Tang P., Wishart D.S. *BMC Bioinformatics*, 2008, vol. 9, no. 1, p. 507. DOI: 10.1186/1471-2105-9-507.
93. Larive C.K., Barding G.A., Dinges M.M. *Analytical Chemistry*, 2015, vol. 87, no. 1, pp. 133–146. DOI: 10.1021/ac504075g.
94. Nagana Gowda G.A., Raftery D. *Analytical Chemistry*, 2017, vol. 89, no. 1, pp. 490–510. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b04420.
95. Smolinska A., Blanchet L., Buydens L.M., Wijmenga S.S. *Analytica Chimica Acta*, 2012, vol. 750, pp. 82–97. DOI: 10.1016/j.aca.2012.05.049.
96. Mercier P., Lewis M.J., Chang D., Baker D., Wishart D.S. *Journal of Biomolecular NMR*, 2011, vol. 49, no. 3, pp. 307–323. DOI: 10.1007/s10858-011-9480-x.
97. Kim H.K., Choi Y.H., Verpoorte R. *Trends in Biotechnology*, 2011, vol. 29, no. 6, pp. 267–275. DOI: 10.1016/j.tibtech.2011.02.001.

98. Kumar D. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2016, vol. 46, no. 5, pp. 400–412. DOI: 10.1080/10408347.2015.1106932.
99. Markley J., Brüschweiler R., Edison A., Eghbalian H., Powers R., Raftery D., Wishart D. *Current Opinion in Biotechnology*, 2017, vol. 43, pp. 34–40. DOI: 10.1016/j.copbio.2016.08.001.
100. Bingol K., Brüschweiler R. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2015, vol. 18, no. 5, pp. 471–477. DOI: 10.1097/IMCO.0000000000000206.
101. Bingol K., Brüschweiler-Li L., Yu C., Somogyi A., Zhang F., Brüschweiler R. *Analytical Chemistry*, 2015, vol. 87, no. 7, pp. 3864–3870. DOI: 10.1021/ac504633z.
102. Sarker S.D., Nahar L. *Natural Products Isolation. Humana Press.*, 2005, pp. 233–267. DOI: 10.4103%2F2229-4708.72222.
103. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006, vol. 40, no. 3, pp. 491–804.
104. Wolfender J.-L., Ndjoko K., Hostettmann K. *Journal of Chromatography A*, 2003, vol. 1000, no. 1, pp. 437–455. DOI: 10.1016/S0021-9673(03)00303-0.
105. Elipe M.V.S. *Analytica Chimica Acta*, 2003, vol. 497, no. 1, pp. 1–25. DOI: 10.1016/j.aca.2003.08.048.
106. Allard P.-M., Genta-Jouve G., Wolfender J.-L. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2017, vol. 36, pp. 40–49. DOI: 10.1016/j.aca.2003.08.048.
107. Yang Z. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006, vol. 40, no. 3, pp. 516–527. DOI: 10.1016/j.jpba.2005.10.002.
108. Katajamaa M., Orešič M. *Journal of Chromatography A*, 2007, vol. 1158, no. 1–2, pp. 318–328. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.04.021.
109. De Iorio M., Ebbels T.M.D., Stephens, D.A. *Handbook of Statistical Genetics*, John Wiley & Sons, Ltd., 2008, pp. 347–373. DOI: 10.1002/9780470061619.ch11.
110. Chagoyen M., Pazos F. *Briefings in Bioinformatics*, 2013, vol. 14, no. 6, pp. 737–744. DOI: 10.1093/bib/bbs055.
111. Worley B., Powers R. *Current Metabolomics*, 2013, vol. 1, no. 1, pp. 92–107. DOI: 10.2174%2F2213235X11301010092
112. Evdokimova O.V. *Razrabotka metodologii standartizatsii i kontrolya kachestva sredstv rastitel'nogo prois-khozhdeniia (garmonizatsiia, unifikatsiia, validatsiia): Diss. ... doktora farm. nauk.* [Development of methodology for standardization and quality control of plant origin (harmonization, unification, validation): Diss. ... doctor farm. sciences.]. Moskva, 2012, 338 p. (in Russ.).
113. Kurkin V.A. *Farmakognozii*. [Pharmacognosy]. Samara, 2004, 1180 p. (in Russ.).
114. Cherkashina E.V. *Ekonomika i organizatsiia ratsional'nogo ispol'zovaniia i okhrany zemel' efiromaslichnoi i lekarstvennoi otrasli v Rossiiskoi Federatsii: Diss. ... doktora ekonom. nauk.* [Economics and organization of rational use and protection of land in the essential oil and drug industry in the Russian Federation: Diss. ... doctor of economy. sciences.]. Moskva, 2014, 419 p. (in Russ.).
115. *Farmatsevticheskii vestnik*, 2009, no. 5 (537), URL: <https://pharmvestnik.ru/publs/starj-arxiv-gazety/12027.html>. (in Russ.).
116. Kiseleva T.L., Smirnova Iu.A. *Lekarstvennye rasteniia v mirovoi meditsinskoi praktike: gosudarstvennoe regulirovanie nomenklatury i kachestva*. [Medicinal plants in world medical practice: state regulation of the nomenclature and quality]. Moscow, 2009, 295 p. (in Russ.).
117. Zenkevich I.G., Pimenov A.I., Pozharitskaia O.N., Shikov A.N., Makarov V.G. *Rastitel'nye resursy*, 2003, vol. 39, no. 3, pp. 143–152. (in Russ.).
118. Shemeriankina T.B., Sokol'skaia T.A., Dargaeva T.D. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii*, 2010, no. 3, pp. 9–12. (in Russ.).
119. Sokol'skaia T.A., Dargaeva T.D., Shemeriankina T.B. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii*, 2009, no. 3, pp. 10–13. (in Russ.).
120. Balandina I.A. *Sovershenstvovanie printsipov i metodov farmakopeinogo analiza v sisteme standartizatsii lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ia i lekarstvennykh sredstv na ego osnove: Diss. ... doktora farm. nauk.* [Improving the principles and methods of pharmacopoeial analysis in the system of standardization of medicinal plant materials and medicines based on it: Diss. ... doctor farm. sciences.]. Moskva, 2004, 304 p. (in Russ.).

Received April 16, 2018

Revised June 18, 2018

Accepted June 18, 2018

For citing: Morozov S.V., Tkacheva N.I., Tkachev A.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2018, no. 4, pp. 5–28. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2018044003.