



О.В. Евдокимова   
А.В. Бекетова    
О.А. Наумова   
И.В. Клинова   
Т.Б. Шемерянкина   
Л.А. Ладыгина   
К.С. Бущик 

## Современные методы идентификации и количественного определения сердечных гликозидов

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

 Бекетова Анастасия Викторовна; [beketova@expmed.ru](mailto:beketova@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Сердечные гликозиды более двух столетий находят применение в медицине. Данные современных исследований позволяют рассматривать перспективу применения биологически активных веществ этой группы не только в кардиологии, но и для лечения вирусных, онкологических и других заболеваний. Таким образом, актуальность выбора методов контроля качества сердечных гликозидов возрастает.

**Цель.** На основе анализа отечественных и зарубежных стандартов качества, а также современных научных данных выявить перспективные методы идентификации и количественного определения сердечных гликозидов в лекарственном растительном сырье (ЛРС) и лекарственных препаратах и оценить возможность использования физико-химических методов взамен биологических.

**Обсуждение.** Используемые в настоящее время методы стандартизации сердечных гликозидов являются неселективными или предусматривают использование лабораторных животных (биологические тест-системы). При изучении фармакопейных методов идентификации сердечных гликозидов как в ЛРС, так и в составе лекарственных средств было показано, что актуальным остается использование химических методов (качественных реакций) и тонкослойной хроматографии. Установлено, что при количественной оценке ЛРС и экстракционных препаратов из него используются биологические или неселективные (спектрофотометрические) методы, хроматографические методы представлены только в фармакопейных статьях и монографиях на субстанции, содержащие индивидуальные сердечные гликозиды, и лекарственные препараты на их основе. Проведенный анализ стандартов качества и научных публикаций позволил выявить перспективные методы количественного определения сердечных гликозидов как в ЛРС, так и в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах. Такими методами могут быть высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием.

**Выводы.** Наиболее приемлемым методом для фармакопейного анализа является обращенно-фазовая ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием. Разработка ВЭЖХ-методики количественного определения сердечных гликозидов позволит перейти от использования биологических или неселективных методов при анализе сердечных гликозидов к современному селективному методу анализа.

**Ключевые слова:** лекарственное растительное сырье; сердечные гликозиды; стандартизация; качественные реакции; тонкослойная хроматография; высокоэффективная жидкостная хроматография; фармакопейные требования

**Для цитирования:** Евдокимова О.В., Бекетова А.В., Наумова О.А., Климова И.В., Шемерянкина Т.Б., Ладыгина Л.А., Бушчик К.С. Современные методы идентификации и количественного определения сердечных гликозидов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(4):568–578. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-568-578>

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).  
**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Olga V. Evdokimova   
Anastasia V. Beketova    
Olga A. Naumova   
Irina V. Klinkova   
Tatiana B. Shemeryankina   
Liana A. Ladygina   
Kristina S. Bushik 

## Modern Methods for Identification and Quantification of Cardiac Glycosides

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

 **Anastasia V. Beketova;** [beketova@expmed.ru](mailto:beketova@expmed.ru)

### ABSTRACT

**Scientific relevance.** Cardiac glycosides have been used in medicine for over two centuries. Current studies suggest that biologically active substances from this group can be used to treat not only heart conditions but also viral infections, cancers, and other diseases. Therefore, quality control methods for cardiac glycosides are becoming increasingly relevant.

**Aim.** Based on a review of Russian and international quality standards, as well as up-to-date scientific data, this study aimed to identify promising methods for the identification and quantification of cardiac glycosides in herbal drugs and herbal medicinal products, as well as to evaluate the possibility of substituting physicochemical methods for biological methods.

**Discussion.** The methods that are currently used to standardise cardiac glycosides are either not selective or require laboratory animals (biological test systems). According to a study of pharmacopoeial methods for the identification of cardiac glycosides in herbal drugs and herbal medicinal products, chemical identification tests and thin-layer chromatography continue to be relevant. Quantitative testing of herbal drugs and extracts uses biological and non-selective (spectrophotometry) methods, whereas chromatography is described only in general and individual monographs for herbal drug preparations containing individual cardiac glycosides and medicinal products containing these preparations. Upon analysing quality standards and scientific publications, the authors identified potentially promising methods for the quantification of cardiac glycosides in herbal drugs, herbal drug preparations, and herbal medicinal products: high-performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography coupled with mass-spectrometric detection methods.

**Conclusions.** Reverse-phase HPLC with spectrophotometric detection is the most suitable method for pharmacopoeial analysis. The development of an HPLC-based analytical procedure to determine the cardiac glycoside content will provide an opportunity to advance from biological or non-selective methods to more ethical and selective up-to-date techniques.

**Keywords:** herbal drugs; cardiac glycosides; standardisation; qualitative reactions; thin-layer chromatography; high-performance liquid chromatography; pharmacopoeia

**For citation:** Evdokimova O.V., Beketova A.V., Naumova O.A., Klinkova I.V., Shemeryankina T.B., Ladygina L.A., Bushchik K.S. Modern methods for identification and quantification of cardiac glycosides. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):568–578. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-568-578>

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

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

## Введение

Применение лекарственных средств из лекарственного растительного сырья (ЛРС) обусловлено рядом преимуществ: эффективность, хорошая переносимость, низкая стоимость, биоразлагаемость и отсутствие экологического вреда. Кроме того, ЛРС является источником индивидуальных биологически активных веществ, образующихся в результате первичного и вторичного метаболизма, что дает возможность создавать новые лекарственные препараты на их основе [1]. Сердечные гликозиды (СГ) находят применение в медицинской практике более двухсот лет [2, 3]. Они представляют собой вторичные метаболиты, продуцируемые растениями, принадлежащими, в частности, к родам *Convallaria* (ландыш), *Adonis* (горичвет), *Digitalis* (наперстянка) и *Drimia* (морской лук), *Nerium* (олеандр), *Erysimum* (желтушник), *Strophanthus* (строфант). С химической точки зрения СГ относятся к стероидам, имеющим в структуре агликона ядро циклопентанпергидрофенантрена. От прочих стероидов они отличаются наличием в положении C<sub>17</sub> ненасыщенного лактонного кольца. По величине лактонного цикла разной степени насыщенности они классифицируются на карденолиды и буфадиенолиды [4].

В определенном диапазоне доз СГ имеют длительную историю использования в качестве лекарственных средств при лечении различных сердечно-сосудистых заболеваний [5–11]. На отечественном фармацевтическом рынке СГ представлены как однокомпонентными, так и комбинированными лекарственными препаратами, применяемыми при сердечно-сосудистых патологиях (табл. 1). Многие из этих препаратов не одно десятилетие используются при острой и хронической сердечной недостаточности и различных видах тахикардии (пароксизмальная форма фибрилляции предсердий, пароксизмальная наджелудочковая тахикардия).

Согласно данным литературы, СГ представляют интерес не только для применения в кардиологии [12], но и в других областях медицины. Проведенные исследования показали, что СГ обладают ингибирующим действием на вирусы (герпеса, ВИЧ, аденовирусы) [13–16], нейропротекторной активностью при ишемическом

инсульте [17] и антиноцицептивным действием [18]. Выявлена повышенная восприимчивость опухолевых клеток к СГ при нейробластоме [19], раке легких [20–24], предстательной железы [25–27], молочной железы [28–30], кожи [31], крови [24, 30, 32–35] и почек [24, 30]. Эти данные свидетельствуют о перспективности разработки лекарственных препаратов на основе СГ не только для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Цель работы – на основе анализа отечественных и зарубежных стандартов качества, а также современных научных данных выявить перспективные методы идентификации и количественного определения сердечных гликозидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных препаратах и оценить возможность использования физико-химических методов взамен биологических.

## Сравнительный анализ фармакопейных методов контроля качества сердечных гликозидов

Фармакопейные статьи и монографии на ЛРС, содержащее СГ, представлены как в отечественной фармакопее, так и в зарубежных фармакопеях (табл. 2, опубликована на сайте журнала)<sup>1</sup>, на некоторые виды ЛРС стандартов качества нет ни в одной из ведущих фармакопей мира. Это наперстянки шерстистой листья, строфанта приятного семени и строфанта Комбе семени. В Японской фармакопее<sup>2</sup> и фармакопее КНР<sup>3</sup> отсутствуют монографии на ЛРС, содержащее СГ.

Сравнительный анализ показал, что для идентификации СГ в ЛРС согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) используют в основном химические методы (качественные реакции), а для количественного определения – биологические методы оценки активности<sup>4</sup>. Анализ монографий Европейской, Французской, Британской фармакопей, а также фармакопеи США и республики Беларусь показал, что определение подлинности в основном проводится методом тонкослойной хроматографии и химическими методами (качественные реакции), а количественная оценка – методом спектрофотометрии.

Использование качественных реакций и тонкослойной хроматографии при сравнении

<sup>1</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-568-578-tabl2>

<sup>2</sup> Japanese Pharmacopoeia. 17th ed. Tokyo; 2016.

<sup>3</sup> Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Vol. I. Beijing: China Medical Science and Technology Press; 2015.

<sup>4</sup> ОФС.1.2.4.0009.15 Биологические методы оценки активности лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, содержащих сердечные гликозиды. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

**Таблица 1.** Лекарственные препараты на основе сердечных гликозидов, зарегистрированные в Российской Федерации<sup>5</sup>

**Table 1.** Medicinal products containing cardiac glycosides approved in the Russian Federation<sup>5</sup>

Лекарственное растительное сырье <i>Herbal drugs</i>	Международное непатентованное наименование или группировочное (химическое) наименование лекарственного препарата <i>International non-proprietary or grouping (chemical) names of herbal medicinal products</i>
<b>Горицвета весеннего трава</b> <i>Adonis vernalis herbae</i> <i>Adonis vernalis herb</i>	Горицвета весеннего травы экстракт сухой+калия бромид <i>Dry extract of Adonis vernalis herb + potassium bromide</i>
	Боярышника плодов экстракт жидкий+валерианы лекарственной корневищ с корнями свежих настойка+горицвета весеннего травы сумма сердечных гликозидов (адонизид)+желтушника раскидистого травы экстракт жидкий+камфора+натрия бромид <i>Hawthorn berry liquid extract + valerian rhizome and root tincture + Adonis vernalis herb total cardiac glycosides (adoniside) + diffuse erysimum herb liquid extract + camphor gum + sodium bromide</i>
<b>Желтушника раскидистого трава</b> <i>Erysimum diffusum Ehrh. herbae</i> <i>Diffuse erysimum herb</i>	Боярышника плодов экстракт жидкий+валерианы лекарственной корневищ с корнями свежих настойка+горицвета весеннего травы сумма сердечных гликозидов (адонизид)+желтушника раскидистого травы экстракт жидкий+камфора+натрия бромид <i>Hawthorn berry liquid extract + valerian rhizome and root tincture + Adonis vernalis herb total cardiac glycosides (adoniside) + diffuse erysimum herb liquid extract + camphor gum + sodium bromide</i>
<b>Ландыша трава</b> <i>Convallariae herba</i> <i>Lily of the valley herb</i>	Ландыша травы настойка <i>Lily of the valley herb tincture</i>
	Валерианы лекарственной корневищ с корнями настойка+ландыша травы настойка <i>Valerian rhizome and root tincture + lily of the valley herb tincture</i>
	Ландыша травы настойка+пустырника травы настойка <i>Lily of the valley herb tincture + motherwort herb tincture</i>
	Валерианы лекарственной корневищ с корнями настойка+ландыша травы настойка+левоментола раствор в ментилизовалерате+нитроглицерин <i>Valerian rhizome and root tincture + lily of the valley herb tincture + levomenthol solution in menthyl isovalerate + nitroglycerin</i>
	Белладонны настойка+валерианы лекарственной корневищ с корнями настойка+ландыша травы настойка+левоментол <i>Belladonna tincture + valerian rhizome and root tincture+ lily of the valley herb tincture + levomenthol</i>
	Боярышника плодов экстракт жидкий+крапивы двудомной листьев экстракт жидкий+-ландыша травы настойка <i>Hawthorn berry liquid extract + nettle leaf liquid extract + lily of the valley herb tincture</i>
	Ландыша листьев сумма гликозидов <i>Lily of the valley leaf total glycosides</i>
<b>Наперстянки шерстистой листья</b> <i>Digitalis lanata Ehrh. folia</i> <i>Grecian foxglove leaf</i>	Ланатозид Ц <i>Lanatoside C</i>
	Дигоксин <i>Digoxin</i>
<b>Строфанта приятного семена</b> <i>Strophanthus gratus (Wall. &amp; Hook.) Baill. semen</i> <i>Spiny-flowered strophanthus seed</i>	Уабаин (строфантин Г) <i>Ouabain (g-strophanthin)</i>
<b>Строфанта Комбе семена</b> <i>Strophanthus kombe Oliv. semen</i> <i>Kombe strophanthus seed</i>	Строфантин К <i>K-strophanthin</i>

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

со стандартными образцами позволяет простыми, достоверными и доступными методами идентифицировать СГ. Основным недостатком количественного анализа СГ, основанного на образовании окрашенных продуктов с их последующим спектрофотометрическим определением,

является отсутствие специфичности. При анализе извлечений из ЛРС или лекарственных препаратов, полученных путем экстракции, т.е. суммы веществ, использование метода спектрофотометрии может приводить к завышенным результатам.

<sup>5</sup> <https://grls.rosminzdrav.ru/>

Биологические методы количественной оценки СГ основаны на их способности в токсических дозах вызывать систолическую остановку сердца животных разных видов (лягушек<sup>6</sup> и голубей<sup>7</sup>). Проведение испытаний на животных (использование биологических тест-систем) связано с возникновением ряда этических проблем и может считаться недостатком метода. Кроме того, биологические методы определения СГ не всегда обеспечивают желаемую воспроизводимость и точность результатов (ошибка анализа составляет от 10 до 25%), носят сезонный характер (для лягушек). Учитывая перечисленные недостатки биологических методов, а также положения Директивы № 2010/63/ЕС<sup>8</sup>, для реализации поиска возможных альтернативных путей проведения научных исследований без участия животных необходимо разработать специфические физико-химические методы анализа СГ.

Сравнительный анализ фармакопейных статей и монографий на фармацевтические субстанции и лекарственные препараты, полученные из ЛРС, содержащего СГ, показал, что идентификацию субстанций осуществляют методом ИК-спектроскопии, химическими методами (качественные реакции) и хроматографическими методами (тонкослойная хроматография (ТСХ) и высокоэффективная хроматография (ВЭЖХ)), а лекарственных препаратов – химическими методами (качественные реакции) и методами ТСХ и ВЭЖХ (табл. 3, опубликована на сайте журнала)<sup>9</sup>.

Качественные реакции для идентификации СГ, представленные во всех ведущих мировых фармакопеях, позволяют подтвердить присутствие той или иной функциональной группы: стероидного ядра, лактонного кольца, углеводной части молекулы (табл. 4). Реакция Келлера – Килиани включена во все фармакопеи для идентификации СГ наперстянок пурпурной и шерстистой; реакция Балье используется для определения подлинности ЛРС и препаратов ландыша, а также ЛРС желтушника раскидистого согласно требованиям ГФ РФ; реакция Пезеца используется при анализе ЛРС наперстянки пурпурной по фармакопее Республики Беларусь; реакция Легалья – при оценке ЛРС горичвета весеннего и желтушника раскидистого согласно ГФ РФ; реакция Раймонда – для убаина по требованиям

Европейской и Британской фармакопей и для препаратов наперстянки шерстистой согласно требованиям фармакопей Японии, США и Китая (табл. 2, 3, опубликованы на сайте журнала)<sup>10</sup>.

Количественная оценка проводится в основном методом ВЭЖХ, очень редко биологическими методами. Использование метода спектрофотометрии оправданно и проводится только в случае анализа фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов, содержащих индивидуальные СГ (табл. 3).

### Сравнительный анализ методов контроля качества сердечных гликозидов, описанных в научной литературе

Результаты анализа научной литературы свидетельствуют о том, что для обнаружения СГ в различных объектах (растительное сырье, биологические жидкости) является актуальным проводить идентификацию с помощью качественных реакций, различных видов тонкослойной хроматографии (двумерная, высокоэффективная), а также другими хроматографическими методами (табл. 5).

Количественную оценку проводят методом ВЭЖХ с постколоночной дериватизацией; методами жидкостной и газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (табл. 5). Преимуществами этих методов являются хорошая специфичность, линейность, точность и расширенная неопределенность измерений, возможность проводить одновременный анализ смеси веществ, что находит свое применение в исследовательской работе, при анализе биологических материалов (тканей, сыворотки крови, мочи) в токсикологии, в том числе для подтверждения профиля и структуры СГ при отравлениях животных, в том числе домашнего скота, и людей. Эти методы разработаны недавно и для природных объектов не нашли пока широкого распространения, они требуют высокотехнологичного оборудования, анализ занимает много времени и имеет высокую стоимость.

Иммунохимические методы (иммуоферментный флуоресцентный поляризационный анализ, иммуоферментный анализ, радиоиммунологический анализ) обладают высокой чувствительностью и селективностью, занимают первое

<sup>6</sup> Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

<sup>7</sup> United States Pharmacopoeia. USP–NF. Rockville, MD; 2023.

<sup>8</sup> Директива № 2010/63/ЕС Европейского парламента и Совета Европейского союза «О защите животных, использующихся в научных целях». Страсбург; 2010.

<sup>9</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-568-578-tabl3>

<sup>10</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-568-578-tabl2>

<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-568-578-tabl3>

Таблица 4. Основные качественные реакции на сердечные гликозиды

Table 4. Main identification tests for cardiac glycosides

Функциональные группы <i>Functional groups</i>	Качественные реакции <i>Identification tests</i>
Стероидное кольцо <i>Steroid ring</i>	Реакция Либермана – Бурхарда со смесью уксусного ангидрида и кислоты серной концентрированной (50:1) – сине-зеленое окрашивание; с реактивом Чугаева с хлоридом цинка и ацетилхлоридом в кислоте уксусной – розовое окрашивание; реакция Розенгейма с трихлоруксусной кислотой – розовое окрашивание, переходящее в розово-фиолетовое или синее <i>The Lieberman-Burkhard test with a mixture of acetic anhydride and concentrated sulphuric acid (50:1) produces a blue-green colour. The test with Chugaev's reagent using zinc chloride and acetyl chloride in acetic acid produces a pink colour. The Rosenheim test with trichloroacetic acid produces a pink colour turning into pink-violet or blue</i>
Лактонное кольцо* <i>Lactone ring*</i>	Реакция Кедде с кислотой 3,5-динитробензойной – фиолетово-красное окрашивание (специфическая реакция на $\gamma$ -лактонное кольцо карденолидов); реакция Легалья с натрия нитропруссидом – красное окрашивание; реакция Раймонда с м-динитробензолом в бензоле – фиолетовое окрашивание; реакция Балье с кислотой пикриновой в щелочной среде – оранжевое окрашивание <i>The Kedde test with 3,5-dinitrobenzoic acid produces a violet-red colour (specific for the <math>\gamma</math>-lactone ring of cardenolides). The Legal test with sodium nitroprusside produces a red colour. The Raymond test with m-dinitrobenzene in benzene produces a violet colour. The Baljet test with picric acid in an alkaline medium produces an orange colour</i>
Углеводный остаток <i>Carbohydrate residue</i>	Реакция Келлера–Килиани со смесью ледяной кислоты уксусной, содержащей следы железа (III) сульфата, и серной кислоты концентрированной со следами железа (III) хлорида – серовато-синее окрашивание; ди- и тригликозиды (К-строфантин и строфантозид) не вступают в реакцию Келлера–Килиани, поэтому сначала проводят гидролиз гликозида кислотой трихлоруксусной, а свободный 2-дезоксахар обнаруживают по голубому окрашиванию после реакции с п-нитрофенилгидразином в щелочной среде; реакция Пезеца с ксантгидролом в присутствии уксусной кислоты с последующим добавлением нескольких капель $H_2SO_4$ (или $H_3PO_4$ ) – красное окрашивание <i>The Keller-Kiliani test with a mixture of glacial acetic acid containing traces of iron (III) sulphate and concentrated sulphuric acid with traces of iron (III) chloride produces a grayish-blue colour; di- and triglycosides (K-strophanthin and strophanthoside) do not react in the Keller-Kiliani test, therefore, a glycoside is first hydrolysed with trichloroacetic acid, and free 2-deoxysugar is detected by its blue colour after the reaction with n-nitrophenylhydrazine in an alkaline medium. The Pessez test: the reaction with xanthidrol in the presence of acetic acid followed by the addition of a few drops of <math>H_2SO_4</math> (or <math>H_3PO_4</math>) produces a red colour</i>

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

\* Специфические реакции на шестичленное дважды ненасыщенное лактонное кольцо не найдены. Подлинность буфадиенолидов определяют по наличию характерной полосы поглощения в ультрафиолетовой области спектра при длине волны 300 нм, в отличие от карденолидов, которые в этих условиях поглощают при 215–220 нм.

\*Specific tests for the six-membered doubly unsaturated lactone ring have not been found. Bufadienolides are identified by the characteristic ultraviolet absorption band at 300 nm, in contrast to cardenolides with the absorption at 215–220 nm under the same conditions.

место по частоте использования для анализа СГ в биологических жидкостях (моче, плазме крови) (табл. 5).

В фармацевтическом анализе чаще всего используют высокоэффективную жидкостную хроматографию и фотометрию. Однако фотометрические методики, основанные на химических реакциях с 2,2',4,4'-тетранитродифенилом, пикриновой кислотой и т.п. [36, 37], не позволяют их использовать при анализе многокомпонентных комплексных лекарственных препаратов с СГ из-за низкой селективности.

Наиболее перспективным методом для анализа лекарственных средств, содержащих СГ, является метод ВЭЖХ, который позволяет проводить анализ смеси веществ, метод высокоселективный и экспрессивный, дает правильные и достоверные результаты анализа, обладает низким

пределом обнаружения и широким диапазоном линейности, оборудование доступно и позволяет полностью автоматизировать анализ (табл. 5). Есть данные о том, что результаты, полученные методом ВЭЖХ, коррелируют с результатами анализа СГ иммунохимическими методами, в частности с результатами, полученными иммуноферментным методом [62].

Хроматографическое разделение СГ проводят на прямой и обращенной фазах, используя изократический и градиентный режимы элюирования. В настоящее время чаще всего применяют колонки с обращенной фазой ( $C_{18}$ ) и градиентный режим элюирования. В качестве подвижной фазы, как правило, берут воду, ацетонитрил, метанол иногда с добавлением аммония ацетата, аммония гидрокарбоната, трифторуксусной или ортофосфорной кислот в различных соотношениях. Используют селективные

Таблица 5. Методы анализа сердечных гликозидов, описанные в научной литературе

Table 5. Testing methods for cardiac glycosides described in the scientific literature

Показатель качества <i>Quality parameter</i>		Источник литературы <i>Reference</i>
Идентификация <i>Identification</i>	Количественное определение <i>Assay</i>	
Качественные реакции <i>Identification tests</i>		38
Двумерная ТСХ <i>2D TLC</i>		39
	ВЭЖХ с постколоночной дериватизацией <i>HPLC with post-column derivatisation</i>	40
ВЭТСХ <i>HPTLC</i>		41
ВЭЖХ-МС <i>HPLC-MS</i>	ВЭЖХ-МС <i>HPLC-MS</i>	42–59
	Иммуноферментный флуоресцентный поляризационный анализ <i>Fluorescence polarisation immunoassay</i>	60, 61
	Иммуноферментный анализ <i>Enzyme immunoassay</i>	61–63
ОФ-ВЭЖХ <i>RP-HPLC</i>	ОФ-ВЭЖХ <i>RP-HPLC</i>	62, 64–70
	Радиоиммунологический анализ <i>Radioimmunoassay</i>	69
ГХ-МС <i>GC-MS</i>	ГХ-МС <i>GC-MS</i>	71, 72
	Фотометрия <i>Photometry</i>	36, 37

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

**Примечание.** ТСХ – тонкослойная хроматография; ГХ-МС – газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием; ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием; ОФ-ВЭЖХ – обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография; ВЭТСХ – высокоэффективная тонкослойная хроматография.

**Note.** TLC, thin-layer chromatography; GC-MS, gas chromatography-mass spectrometry; HPLC-MS, high-performance liquid chromatography-mass spectrometry; RP-HPLC, reversed-phase high-performance liquid chromatography; HPTLC, high-performance thin-layer chromatography.

детекторы диодно-матричные или спектрофотометрические при длине волны 220 нм (иногда 218 или 222 нм).

В настоящее время в стандартах качества на ЛРС, содержащее СГ, как в России, так и за рубежом ВЭЖХ-методики отсутствуют, однако в зарубежных фармакопеях (кроме Французской фармакопеи) представлены отдельные монографии (табл. 3, опубликована на сайте журнала)<sup>11</sup>, согласно которым качество фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов индивидуальных СГ оценивается методом ВЭЖХ. Кроме того, в научной литературе уже встречаются результаты разработки и использования метода ВЭЖХ для анализа ЛРС, содержащего СГ [62, 64–66, 70].

Проведенный анализ научных исследований показал перспективность использования хроматографических методов для идентификации и количественного определения СГ с последующим включением разработанных методик в стандарты качества [73, 74].

### Заключение

В результате сравнительного анализа фармакопейных методов идентификации сердечных гликозидов в лекарственном растительном сырье и в лекарственных средствах было показано, что актуальным остается использование химических методов (качественных реакций) и хроматографических методов (ТСХ). Установлено, что при количественной оценке лекарственного растительного сырья и экстракционных

<sup>11</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-568-578-tabl3>

препаратов из него используют биологические или неселективные методы, при этом хроматографические методы представлены только в фармакопейных статьях и монографиях на субстанции, содержащие индивидуальные сердечные гликозиды, и лекарственные препараты на их основе.

Проведенный анализ стандартов качества и данных научной литературы позволил выявить наиболее перспективные методы количественного определения сердечных гликозидов как в лекарственном растительном сырье, так

и в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах. Такими методами могут быть хроматографические методы (ВЭЖХ-МС, ГХ-МС, ОФ-ВЭЖХ и др.).

Наиболее приемлемым для фармакопейного анализа является обращенно-фазовая высокоэффективная хроматография с УФ-детектированием. Разработка ВЭЖХ-методики количественного определения сердечных гликозидов позволит перейти от использования биологических или неселективных методов к современному физико-химическому методу анализа.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ribeiro WLC, Macedo ITF, Santos JML, Oliveira EF, Camurça-Vasconcelos ALF, Paula HCB, et al. Activity of chitosan-encapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil on *Haemonchus contortus*. *Exp Parasitol*. 2013;135(1):24–9. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.05.014>
2. Rietbrock N, Woodcock B. Two hundred years of foxglove therapy *Digitalis purpurea* 1785–1985. *Trends Pharmacol Sci*. 1985;6:267–9. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(85\)90123-3](https://doi.org/10.1016/0165-6147(85)90123-3)
3. Wade OL. Digoxin 1785–1985. I. Two hundred years of digitalis. *J Clin Hosp Pharm*. 1986;11(1):3–9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2710.1986.tb00822.x>
4. El-Seedi HR, Khalifa SAM, Taher EA, Farag MA, Saeed A, Gamal M, et al. Cardenolides: Insights from chemical structure and pharmacological utility. *Pharmacol Res*. 2019;141:123–75. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.12.01>
5. Дукельская НК, Гармашова ИВ, Давыдова МВ. Сравнительный анализ препаратов сердечных гликозидов, используемых в современной фармакотерапии. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2020;39(S3–4):82–5. Dukelskaya NK, Garmashova IV, Davydova MV. Comparative analysis of the products of cardiac glycosides used in modern pharmacotherapy. *Russian Military Medical Academy Report*. 2020;39(S3–4):82–5 (In Russ.). EDN: SNCYHH
6. Kanji S, MacLean RD. Cardiac glycoside toxicity: more than 200 years and counting. *Crit. Care Clin*. 2012;28(4):527–35. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2012.07.005>
7. Morsy N. Cardiac glycosides in medicinal plants. In: El-Shemy HA, ed. *Aromatic and Medicinal Plants – Back to Nature*. London: InTechOpen; 2017. <https://doi.org/10.5772/65963>
8. Botelho AFM, Pierezan F, Soto-Blanco B, Melo MM. A review of cardiac glycosides: Structure, toxicokinetics, clinical signs, diagnosis and antineoplastic potential. *Toxicol*. 2019;158:63–8. <https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2018.11.429>
9. Pongrakhananon V. Anticancer properties of cardiac glycosides. In: Rangel L, ed. *Cancer Treatment – Conventional and Innovative Approaches*. London: Intechopen; 2013. <https://doi.org/10.5772/55381>
10. Гуревич МА, Гаврилин АА. Сердечные гликозиды в современной клинической практике. *Альманах клинической медицины*. 2014;(35):101–5. Gurevich MA, Gavrilin AA. Cardiac glycosides in up-to-date clinical practice. *Almanac of Clinical Medicine*. 2014;(35):101–5 (In Russ.). <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2014-35-101-105>
11. Мареев ВЮ, Агеев ФТ, Арутюнов ГП, Коротеев АВ, Мареев ЮВ, Овчинников АГ и др. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр). *Сердечная недостаточность*. 2013;14(7):372–9. Mareev VYu, Ageev FT, Arutyunov GP, Koroteev AV, Mareev YuV, Ovchinnikov AG, et al. SEHF, RSC AND RSMSIM National guidelines on CHF diagnostics and treatment (fourth revision). *Heart Failure*. 2013;14(7):372–9 (In Russ.). EDN: VHDBDT
12. Philippe G, Angenot L. Recent developments in the field of arrow and dart poisons. *J. Ethnopharmacol*. 2005;100(1–2):85–91. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.022>
13. Bertol W, Rigotto C, Maia de Pádua R, Kreis W, Monte Barardi CR, Braga FC, Simões CMO. Antiherpes activity of glucoevatromonoside, a cardenolide isolated from a Brazilian cultivar of *Digitalis lanata*. *Antiviral Res*. 2011;92(1):73–80. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.06.015>
14. Zhyvoloup A, Melamed A, Anderson I, Planas D, Lee C-H, Kriston-Vizi J, et al. Digoxin reveals a functional connection between HIV-1 integration preference and T-cell activation. *PLoS Pathog*. 2017;13(7):e1006460. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006460>
15. Wong RW, Balachandran A, Ostrowski MA, Cochrane A. Digoxin suppresses HIV-1 replication by altering viral RNA processing. *PLoS Pathog*. 2013;9(3):e1003241. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003241>
16. Grosso F, Stoilov P, Lingwood C, Brown M, Cochrane A. Suppression of adenovirus replication by cardiotoxic steroids. *J Virol*. 2017;91(3):e01623-16. <https://doi.org/10.1128/jvi.01623-16>
17. Wang JKT, Portbury S, Thomas MB, Barney S, Ricca DJ, Morris DL, et al. Cardiac glycosides provide neuroprotection against ischemic stroke: Discovery by a brain slice-based compound screening platform. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(27):10461–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0600930103>
18. Пенниайнен ВА, Плахова ВБ, Подзорова СА, Терехин СГ, Крылов БВ. Возможная физиологическая функция эндогенного убаина. *Интегративная физиология*. 2021;2(1):96–101. Penniayinen VA, Plakhova VB, Podzorova SA, Terexhin SG, Krylov BV. Possible physiological function of en-

- ogenous ouabain. *Integrative Physiology*. 2021;2(1):96–101 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-1-96-101>
19. Kulikov A, Eva A, Kirch U, Boldyrev A, Scheiner-Bobis G. Ouabain activates signaling pathways associated with cell death in human neuroblastoma. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1768(7):1691–702.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.04.012>
  20. Lin SY, Chang HH, Lai YH, Lin CH, Chen MH, Chang GC, et al. Digoxin suppresses tumor malignancy through inhibiting multiple Src-related signaling pathways in non-small cell lung cancer. *PLoS One*. 2015;10(5):e0123305.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123305>
  21. Mijatovic T, Mathieu V, Gaussin JF, De Neve N, Ribaucour F, Van Quaquebeke, et al. Cardenolide-induced lysosomal membrane permeabilization demonstrates therapeutic benefits in experimental human non-small cell lung cancers. *Neoplasia*. 2006;8(5):402–12.  
<https://doi.org/10.1593/neo.05850>
  22. Mijatovic T, De Beeck AO, Van Quaquebeke EV, Dewelle J, Darro F, de Launoit Y, Kiss R. The cardenolide UNBS1450 is able to deactivate nuclear factor  $\kappa$ B-mediated cytoprotective effects in human non-small cell lung cancer cells. *Mol Cancer Ther*. 2006;5(2):391–9.  
<https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-05-0367>
  23. Frese S, Frese-Schaper M, Andres AC, Miescher D, Zumkehr B, Schmid RA. Cardiac glycosides initiate Apo2L/TRAIL-induced apoptosis in non-small cell lung cancer cells by up-regulation of death receptors 4 and 5. *Cancer Res*. 2006;66(11):5867–74.  
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-3544>
  24. Johansson S, Lindholm P, Gullbo J, Larsson R, Bohlin L, Claeson P, et al. Cytotoxicity of digitoxin and related cardiac glycosides in human tumor cells. *Anticancer Drugs*. 2001;12(5):475–83.  
<https://doi.org/10.1097/00001813-200106000-00009>
  25. McConkey DJ, Lin Y, Nutt LK, Ozel HZ, Newman RA. Cardiac glycosides stimulate  $Ca^{2+}$  increases and apoptosis in androgen-independent, metastatic human prostate adenocarcinoma cells. *Cancer Res*. 2000;60(14):3807–12. PMID: 10919654
  26. Huang YT, Chueh SC, Teng CM, Guh JH. Investigation of ouabain-induced anticancer effect in human androgen-independent prostate cancer PC-3 cells. *Biochem Pharmacol*. 2004;67(4):727–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2003.10.013>
  27. Yeh JY, Huang WJ, Kan SF, Wang PS. Effects of bufalin and cinobufagin on the proliferation of androgen dependent and independent prostate cancer cells. *Prostat*. 2003;54(2):112–24.  
<https://doi.org/10.1002/pros.10172>
  28. Chen JQ, Contreras RG, Wang R, Fernandez SV, Shoshani L, Russo IH, et al. Sodium/potassium ATPase (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase) and ouabain/related cardiac glycosides: A new paradigm for development of anti-breast cancer drugs. *Breast Cancer Res Treat*. 2006;96(1):1–15.  
<https://doi.org/10.1007/s10549-005-9053-3>
  29. Bielawski K, Winnicka K, Bielawska A. Inhibition of DNA topoisomerases I and II, and growth inhibition of breast cancer MCF-7 cells by ouabain, digoxin and proscillaridin. *Biol Pharm Bull*. 2006;29(7):1493–7.  
<https://doi.org/10.1248/bpb.29.1493>
  30. Lopez-Lazaro M, Pastor N, Azrak SS, Ayuso MJ, Austin CA, Cortes F. Digitoxin inhibits the growth of cancer cell lines at concentrations commonly found in cardiac patients. *J Nat Prod*. 2005;68(11):1642–5.  
<https://doi.org/10.1021/np050226l>
  31. Newman RA, Yang P, Hittelman WN, Lu T, Ho DH, Ni D, et al. Oleandrin-mediated oxidative stress in human melanoma cells. *J Exp Ther Oncol*. 2006;5(3):167–81. PMID: 16528968
  32. Masuda Y, Kawazoe N, Nakajo S, Yoshida T, Kuroiwa Y, Nakaya K. Bufalin induces apoptosis and influences the expression of apoptosis-related genes in human leukemia cells. *Leuk Res*. 1995;19(8):549–56.  
[https://doi.org/10.1016/0145-2126\(95\)00031-j](https://doi.org/10.1016/0145-2126(95)00031-j)
  33. Jing Y, Ohizumi H, Kawazoe N, Hashimoto S, Masuda Y, Nakajo S, et al. Selective inhibitory effect of bufalin on growth of human tumor cells in vitro: association with the induction of apoptosis in leukemia HL-60 cells. *Jpn J Cancer Res*. 1994;85(6):645–51.  
<https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.1994.tb02408.x>
  34. Kawazoe N, Watabe M, Masuda Y, Nakajo S, Nakaya K. Tiam1 is involved in the regulation of bufalin-induced apoptosis in human leukemia cells. *Oncogene* 1999;18(15):2413–21.  
<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202555>
  35. Watabe M, Kawazoe N, Masuda Y, Nakajo S, Nakaya K. Bcl-2 protein inhibits bufalin-induced apoptosis through inhibition of mitogen-activated protein kinase activation in human leukemia U937 cells. *Cancer Res*. 1997;57(15):3097–100. PMID: 9242431
  36. Круглов ДС, Кошкарёва КЕ. Количественное определение конваллятоксина в растительном сырье, содержащем кардиостероиды, методом фотометрии. *Сибирский медицинский вестник*. 2019;(4):34–7. Kruglov DS, Koshkareva KE. Quantitative estimation of convallatoxin in plant raw material containing cardiosteroids by photometry. *Sibirskij medicinskij vestnik*. 2019;(4):34–7 (In Russ.). EDN: LHXXYU
  37. Власенко ЛМ. Определение гликозидов дигиталиса в трупном материале фотометрическим методом на основе реакции взаимодействия с 2,2',4,4'-тетранитродифенилом. *Судебно-медицинская экспертиза*. 1976;(4):23–7. Vlasenko LM. Determination of digitalis glycosides in cadaveric material by a photometric method based on the reaction of interaction with 2,2',4,4'-tetranitrophenyl. *Forensic Medical Examination*. 1976;(4):23–7 (In Russ.).
  38. Hassan MHA, Ismail MA, Moharram AM, Shoreit AAM. Phytochemical and antimicrobial of latex serum of *Calotropis procera* and its silver nanoparticles against some reference pathogenic strains. *J Ecol Health Environ*. 2017;5(3):65–75.  
<https://doi.org/10.18576/jehe/050301>
  39. Galey FD, Holstege DM, Plumlee KH, Tor E, Johnson B, Anderson ML, et al. Diagnosis of oleander poisoning in livestock. *J Vet Diagn Invest*. 1996;8(3):358–64.  
<https://doi.org/10.1177/104063879600800314>
  40. Hamada K, Iwamoto A, Miyazaki S, Yamanaka N, Gurge KS. Determination of bovine blood oleandrin by high-performance liquid chromatography and postcolumn derivatization. *J Chromatogr Sci*. 2002;40(9):515–8.  
<https://doi.org/10.1093/chromsci/40.9.555>
  41. Praveen US, Gowtham MD, Yogaraje-Gowda CV, Nayak VG, Mohan BM. Detection of residues of cardenolides of *Nerium oleander* by high-performance thin-layer chromatography in autopsy samples. *Int J Med Toxicol Forensic Med*. 2012;2(4):135–42.
  42. Tymiak AA, Norman JA, Bolgar M, DiDonato GC, Lee H, Parker WL, et al. Physicochemical characterization of a ouabain isomer isolated from bovine hypothalamus.

- Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90(17):8189–93.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.90.17.8189>
43. Baecher S, Kroiss M, Fasnacht M, Vogeser M. No endogenous ouabain is detectable in human plasma by ultra-sensitive UPLC-MS/MS. *Clin Chim Acta*. 2014;431:87–92.  
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.01.038>
44. Bylda C, Thiele R, Kobold U, Volmer DA. **Simultaneous** quantification of digoxin, digitoxin, and their metabolites in serum using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal*. 2015;7(10):937–46.  
<https://doi.org/10.1002/dta.1781>
45. Frommherz L, Köhler H, Brinkmann B, Lehr M, Beike J. LC-MS assay for quantitative determination of cardio glycoside in human blood samples. *Int J Legal Med*. 2008;122(2):109–14.  
<https://doi.org/10.1007/s00414-007-0175-5>
46. Gopal Ravi B, Grace Guardian ME, Dickman R, Wang ZQ. Profiling and structural analysis of cardenolides in two species of *Digitalis* using liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2020;1618:460903.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.460903>
47. Gosetti F, Nebbia C, Ceci L, Carelli G, Marengo E. UHPLC-MS/MS determination of oleandrin in blood and tissues of dairy cattle poisoned by oleander (*Nerium oleander*). *Anal Methods*. 2019;11:5562–7.  
<https://doi.org/10.1039/C9AY01800J>
48. Gozalpour E, Greupink R, Bilos A, Verweij V, van den Heuvel J, Masereeuw R, et al. Convallatoxin: A new **P-glycoprotein** substrate. *Eur J Pharmacol*. 2014;744:18–27.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.09.031>
49. Gozalpour E, Greupink R, Wortelboer HM, Bilos A et al. Interaction of digitalis-like compounds with liver uptake transporters Ntcp, Oatp1b1, and Oatp1b3. *Mol Pharm*. 2014;11(6):1844–55.  
<https://doi.org/10.1021/mp400699p>
50. Grabowski T, Swierczewska A, Borucka B, Sawicka R, Sasinowska-Motył M, Gumutka SW, et al. A rapid chromatographic/mass spectrometric method for digoxin quantification in human plasma. *Pharm Chem J*. 2009;43:710–5.  
<https://doi.org/10.1007/s11094-010-0384-y>
51. Guan F, Ishii A, Seno H, Watanabe-Suzuki K, Kumazawa T, Suzuki O. Identification and quantification of cardiac glycosides in blood and urine samples by HPLC/MS/MS. *Anal Chem*. 1999;71(18):4034–43.  
<https://doi.org/10.1021/ac990268c>
52. Josephs RD, Daireaux A, Westwood S, Wielgosz RI. Simultaneous determination of various cardiac glycosides by liquid chromatography-hybrid mass spectrometry for the purity assessment of the therapeutic monitored drug digoxin. *J Chromatogr A*. 2010;1217(27):4535–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.04.060>
53. Kohls S, Scholz-Bottcher B, Rullkotter J, Teske J. Method validation of a survey of thevetia cardiac glycosides in serum samples. *Forensic Sci Int*. 2012;215(1–3):146–51.  
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.02.013>
54. Liang X, Christensen JH, Nielsen JN. Enhancing the power of liquid chromatography – Mass spectrometry for chemical fingerprinting of phytotoxins in the environment. *J Chromatogr A*. 2021;1642:462027.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462027>
55. Malysheva SV, Mulder PPI, Masquelier J. Development and validation of a UHPLC-ESI-MS/MS method for quantification of oleandrin and other cardiac glycosides and evaluation of their levels in herbs and spices from the Belgian market. *Toxins (Basel)*. 2020;12(4):243.  
<https://doi.org/10.3390/toxins12040243>
56. Mitamura K, Horikawa A, Yamane Y, Ikeda Y, Fujii Y, Shimada K. Determination of digoxin in human serum using stable isotope dilution liquid chromatography/electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Biol Pharm Bull*. 2007;30(9):1653–6.  
<https://doi.org/10.1248/bpb.30.1653>
57. Rubini S, Rossi SS, Mestria S, Odoardi S, Chendi S, Poli A, et al. A probable fatal case of oleander (*Nerium oleander*) poisoning on a cattle farm: a new method of detection and quantification of the oleandrin toxin in rumen. *Toxins (Basel)*. 2019;11(8):442.  
<https://doi.org/10.3390/toxins11080442>
58. Yadav PB, Lekhak UM, Ghane SG, Lekhak MM. Phytochemicals, antioxidants, estimation of cardiac glycoside (Scillaren A) and detection of major metabolites using LC-MS from *Drimys* species. *S Afr J Bot*. 2021;140:259–68.  
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.05.002>
59. Zhai JX, Yan H, Shen M, Shen BH, Liu W. Determination of oleandrin in blood and liver samples by LC-MS/MS. *Fa Yi Xue Za Zhi*. 2018;34(6):585–9.  
<https://doi.org/10.12116/j.issn.1004-5619.2018.06.002>
60. Amitava D, Pradip D. Rapid detection of oleander poisoning using digoxin immunoassays comparison of five assays. *Ther Drug Monit*. 2004;26(6):658–63.  
<https://doi.org/10.1097/00007691-200412000-00012>
61. Solnica B. Comparison of serum digoxin concentration monitoring by fluorescence polarization immunoassay on the TDxFLx and dry chemistry enzyme immunoassay on the Vitros 950. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42(8):958–64.  
<https://doi.org/10.1515/CCLM.2004.156>
62. Züst T, Petschenka G, Hastings AP, Agrawal AA. Toxicity of milkweed leaves and latex: chromatographic quantification versus biological activity of cardenolides in 16 *Asclepias* species. *J Chem Ecol*. 2019;45(1):50–60.  
<https://doi.org/10.1007/s10886-018-1040-3>
63. Dasgupta A, Bourgeois L. Convallatoxin, the active cardiac glycoside of lily of the valley, minimally affects the ADVIA Centaur digoxin assay. *J Clin Lab Anal*. 2018;32(8):e22583.  
<https://doi.org/10.1002/jcla.22583>
64. Pellati F, Bruni R, Bellardi MG, Bertaccini A, Benvenuti S. Optimization and validation of a high-performance liquid chromatography method for the analysis of cardiac glycosides in *Digitalis lanata*. *J Chromatogr A*. 2009;1216(15):3260–9.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.02.042>
65. Agrawal P, Akhade M, Laddha K, Narkhede S, Mirgal A, Salunke C. Quantification of convallatoxin in *Antiaris toxicaria* Leusch seeds by RP-HPLC. *Anal Chem Lett*. 2014;4(3):172–7.  
<https://doi.org/10.1080/22297928.2014.925821>
66. Agrawal AA, Ali A, Johnson MD, Hastings AP, Burge D, Weber MG. Toxicity of the spiny thick-foot *Pachypodium*. *Am J Bot*. 2018;105(4):677–86.  
<https://doi.org/10.1002/ajb2.1057>
67. Butt AN, Tennant BP, Gillingwater SD, Shepherd PS, Swaminathan R. Binding of ouabain and human ouabainlike substance to different Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase isoforms. *Hypertens Res*. 2000;23 Suppl:S45–50.  
[https://doi.org/10.1291/hypres.23.supplement\\_s45](https://doi.org/10.1291/hypres.23.supplement_s45)
68. Namera A, Yashiki M, Okada K, Iwasaki Y, Kojima T. Rapid quantitative analysis of oleandrin in human blood by high-performance liquid chromatography. *Nihon Hoizaku Zasshi*. 1997;51(4):315–8. PMID: 9366138

69. Desta B. *HPLC analysis of digoxin and digitoxin: development of methods for dosage form assay and separation of potential impurities and metabolites*. University of British Columbia; 1982.  
<https://doi.org/10.14288/1.0095102>
70. Pérez-Alonso N, Martín R, Capote A, Pérez A, Hernández-Díaz EK, Rojas L, et al. Efficient direct shoot organogenesis, genetic stability and secondary metabolite production of micropropagated *Digitalis purpurea* L. *Ind Crops Prod*. 2018;116:259–66.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.067>
71. Hensel A, Kreis W. GLC-MS investigations on cardenolide genins. *Pharm Acta Helv*. 1997;72(4):243–6.  
[https://doi.org/10.1016/S0031-6865\(97\)00020-4](https://doi.org/10.1016/S0031-6865(97)00020-4)
72. Платонов ВВ, Волочаева МВ, Хадарцев АА, Мелякова ДА, Сухих ГТ, Дунаева ИВ. Химический состав этанольного экстракта ландыша майского (*Convallaria majalis* L., семейство лилейных). *Вестник новых медицинских технологий*. 2019;(2):53–60.  
Platonov VV, Volochaeva MV, Khadartsev AA, Melyakova DA, Sukhikh GT, Dunaeva IV. The chemical composition of ethanol extract of lily of the valley (*Convallaria majalis* L., Lily family). *Journal of New Medical Technologies*. 2019;(2):53–60 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.24411/1609-2163-2019-16356>
73. Быков ЕВ, Вихарева ЕВ. Фармакопейные методы анализа сердечных гликозидов в растительном сырье и лекарственных препаратах (обзор). *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2023;26(7):5–11.  
Bykov EV, Vikhareva EV. Pharmacopoeial methods for the analysis of cardiac glycosides in plant raw materials and medicines (review). *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2023;26(7):5–11 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.29296/25877313-2023-07-01>
74. Орынбекова СО, Келеке АС, Сакипова ЗБ, Ибрагимова ЛН, Сермухамедова ОВ, Нургожин ТС. Сравнительная оценка методик идентификации сердечных гликозидов в лекарственном растительном сырье. *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2019;(2):396–9.  
Orynbekova SO, Keleke AS, Sakipova ZB, Ibragimova LN, Sermukhamedova OV, Nurgozhin TS. Comparative evaluation of the identification methods of cardiac glycosides in herbal drugs. *Vestnik KazNMU*. 2019;(2):396–9 (In Russ.).

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: О.В. Евдокимова – обобщение данных литературы и постановка задач исследования; А.В. Бекетова – написание и оформление рукописи; О.А. Наумова – редактирование и переработка рукописи, составление таблиц; И.В. Климова, Т.Б. Шемерянкина, Л.А. Ладыгина, К.С. Бущик – подбор и анализ источников литературы.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Olga V. Evdokimova summarised literature data and formulated research objectives. Anastasia V. Beketova drafted and formatted the manuscript. Olga A. Naumova edited and revised the manuscript and compiled tables. Irina V. Klinkova, Tatiana B. Shemeryankina, Liana A. Ladygina, Kristina S. Bushchik selected and analysed literature.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Евдокимова Ольга Владимировна**, доктор фарм. наук, доцент

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2191-1033>  
[evdokimovaov@expmed.ru](mailto:evdokimovaov@expmed.ru)

**Бекетова Анастасия Викторовна**, канд. фарм. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6975-516X>  
[beketova@expmed.ru](mailto:beketova@expmed.ru)

**Наумова Ольга Анатольевна**, канд. фарм. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1289-4307>  
[naumovaoa@expmed.ru](mailto:naumovaoa@expmed.ru)

**Климова Ирина Васильевна**  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-9627-1395>  
[klinkovaiv@expmed.ru](mailto:klinkovaiv@expmed.ru)

**Шемерянкина Татьяна Борисовна**, канд. фарм. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3720-9687>  
[shemeryankina@expmed.ru](mailto:shemeryankina@expmed.ru)

**Ладыгина Лиана Александровна**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4551-8252>  
[Ladygina@expmed.ru](mailto:Ladygina@expmed.ru)

**Бущик Кристина Сергеевна**  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2928-9858>  
[bushchikks@expmed.ru](mailto:bushchikks@expmed.ru)

Поступила 27.07.2023

После доработки 06.10.2023

Принята к публикации \_\_\_\_\_ 2023

**Olga V. Evdokimova**, Dr. Sci. (Pharm.), Associate Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2191-1033>  
[evdokimovaov@expmed.ru](mailto:evdokimovaov@expmed.ru)

**Anastasia V. Beketova**, Cand. Sci. (Pharm.).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6975-516X>  
[beketova@expmed.ru](mailto:beketova@expmed.ru)

**Olga A. Naumova**, Cand. Sci. (Pharm.).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1289-4307>  
[naumovaoa@expmed.ru](mailto:naumovaoa@expmed.ru)

**Irina V. Klinkova**  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-9627-1395>  
[klinkovaiv@expmed.ru](mailto:klinkovaiv@expmed.ru)

**Tatiana B. Shemeryankina**, Cand. Sci. (Pharm.)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3720-9687>  
[shemeryankina@expmed.ru](mailto:shemeryankina@expmed.ru)

**Liana A. Ladygina**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4551-8252>  
[Ladygina@expmed.ru](mailto:Ladygina@expmed.ru)

**Kristina S. Bushchik**  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2928-9858>  
[bushchikks@expmed.ru](mailto:bushchikks@expmed.ru)

Received 27 July 2023

Revised 6 October 2023

Accepted \_\_\_\_\_ 2023