

На правах рукописи

СЕРЕБРЯКОВА АНАСТАСИЯ ДМИТРИЕВНА

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
НЕКОТОРЫХ ВИДОВ И СОРТОВ РОДА СИРЕНЬ (*SYRINGA L.*)**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Самара – 2022

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

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор **Куркин Владимир Александрович**

Официальные оппоненты:

Шмыгарева Анна Анатольевна – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии, заведующий кафедрой.

Курбатова Светлана Викторовна – доктор химических наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский институт имени академика С.П. Королева», кафедра физической химии и хроматографии, профессор.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск.

Защита состоится «__» _____ 2022 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке по адресу: 443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171 и на сайте (<http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats/2022/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук, доцент

Жданова Алина Валитовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Одним из важных направлений развития фармацевтического рынка Российской Федерации на сегодняшний день является поиск новых безопасных и эффективных лекарственных препаратов, в том числе проявляющих иммуномодулирующую и антидепрессивную активность.

В связи с этим актуальными являются современные исследования в сфере разработки, а также внедрения принципиально новых препаратов и биологически активных добавок на основе экстрактов из лекарственных растений. Такие программы, как «Стратегия лекарственного обеспечения Российской Федерации на период до 2025 года» и «Фарма-2030» ставят разработку новых лекарственных препаратов отечественного производства важнейшей задачей, в том числе на основе лекарственного растительного сырья. На данный момент в различных регионах России ведется активный поиск новых видов сырья, а также разработка препаратов на их основе (Самылина И.А., Аносова О.Г., 2007, Куркин В.А., 2019, Киселева Т.Л. и др., 2008).

Растительные препараты, содержащие фенилпропаноиды, в частности, производные коричневых спиртов, в исследованиях показали достаточно высокую иммуномодулирующую активность. Препараты из лекарственного растительного сырья (ЛРС) являются высокоэффективными и безопасными, подходят для профилактических мер, а также для комплексной терапии хронических заболеваний, требующей мягкого, но длительного лечения (Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Авдеева Е.В., 2005).

Одним из перспективных объектов при рассмотрении данной проблемы являются представители рода Сирень (*Syringa* L.). Фитохимическое изучение коры сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) показало, что доминирующим биологически активным соединением стал циннамилгликозид сирингин (элеутерозид В) (Куркин В.А., Гриненко Н.А., Запесочная Г.Г., 1989; Куркин В.А., Евстратова Р.И., Запесочная Г.Г., 1991; Самылина И.А., Аносова О.Г., 2007).

Кроме фенилпропаноидов, кора сирени обыкновенной содержит простые фенолы, флавоноиды, кумарины и иридоиды (Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Гриненко Н.А., 1990; Куркин В.А., Евстратова Р.И., Запесочная Г.Г., 1991).

Имеются сведения о наличии маннита и флавоноидов в листьях сирени обыкновенной, что позволяет рассматривать данную морфологическую единицу как потенциальный источник биологически активных соединений (БАС) (Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Кривенчук П.Е., 1980).

Для сирени обыкновенной характерно наличие различных форм – сизой и белой, и множества селекционных сортов. Наличие множества видов ставит задачу установления возможности их применения в фармацевтической практике (Вехов Н.И., 1953; Окунева И.Б. 2001).

В отношении обсуждаемых объектов целесообразным представляется проведение полного фитохимического исследования близкородственных видов и самых распространенных сортов сирени обыкновенной, а также фитохимическое исследование различных сырьевых единиц данного растения. Результаты исследований позволят обосновать разработку актуальной нормативной документации на вновь изученные виды лекарственного растительного сырья.

В данном ключе актуализируется последующее фармакогностическое исследование отдельных видов и сортов сирени в плане поиска новых видов ЛРС, обладающих фармакологической активностью, разработка соответствующей нормативной документации, а также создание новых лекарственных растительных препаратов, получаемых на их основе.

Степень разработанности темы. В ГФ РФ XIV издания на данный момент не включен ни один из видов сирени. Ранее совместным изучением сирени занимались ученые ВИЛАР и СамГМУ, по результатам исследований была зарегистрирована временная фармакопейная статья на ЛРС «Кора сирени обыкновенной» (ВФС 42-2106-92) (Куркин В.А., Гриненко Н.А., Запесочная Г.Г., 1989; Куркин В.А., Евстратова Р.И., Запесочная Г.Г., 1991; Самылина И.А., Аносова О.Г., 2007).

Статьи на такие виды ЛРС, как листья и цветки лекарственного растения сирени обыкновенной в актуальной российской фармакопее не представлены, кроме того на данный момент нет зарегистрированных методик стандартизации этих видов сырья, следовательно исследования являются актуальными.

Цель работы и основные задачи исследования.

Целью настоящей работы является проведение сравнительного фармакогностического изучения различных сортов и видов рода Сирень (*Syringa L.*) с последующим поиском новых подходящих для получения препаратов видов лекарственного растительного сырья.

Для достижения поставленной цели был сформулирован ряд задач:

1. Изучение анатомии и морфологии листьев некоторых представителей рода Сирень (*Syringa L.*): сирени обыкновенной и сирени венгерской.
2. Сравнительное фитохимическое исследование коры, листьев и цветков некоторых видов рода Сирень (*Syringa L.*).
3. Сравнительное фитохимическое исследование цветков сирени обыкновенной, сирени волосистой, сирени Генри и сирени Мейера, в том числе сортовых форм сирени обыкновенной.
4. Изучение химического состава цветков сирени обыкновенной, листьев и коры сирени мелколистной с использованием ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-, УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии.
5. Сравнительное фитохимическое исследование листьев сирени обыкновенной, сирени венгерской, сирени амурской, сирени волосистой, сирени мелколистной, сирени Генри, сирени Звегинцева.
6. Разработка подходов к созданию методик качественного анализа цветков и листьев сирени обыкновенной методом тонкослойной хроматографии (ТСХ), а также УФ-спектроскопии.
7. Разработка подходов к созданию методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной.
8. Разработка новых методов стандартизации суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной.
9. Совершенствование методики количественного определения сирингина в коре сирени обыкновенной методом ВЭЖХ.
10. Исследование фармакологической активности сухого экстракта листьев сирени обыкновенной и густого экстракта цветков сирени обыкновенной.
11. Разработка проекта ФС на новый вид ЛРС «Сирени обыкновенной листья».

Научная новизна. По результатам анатомо-гистологического исследования, проведенного с целью сравнения листовых пластинок некоторых видов сирени, впервые установлены таксономические и диагностически важные признаки, позволяющие найти отличия листьев сирени обыкновенной, как целевого вида сырья, от листьев других представителей рода Сирень. Они заключаются в присутствии характерных погруженных многоклеточных железок, а также в плотности расположения устьичных аппаратов. Результатом сравнения петиолярных признаков черешков сирени обыкновенной и сирени венгерской стало выявление диагностически важных признаков целевого вида сырья (сирени обыкновенной), которые заключаются во внешних очертаниях таких частей черешка, как базальная, апикальная и медиальная, колленхимном армировании черешка, строении эпидермального покрова, присутствии железок, а также склеренхимном армировании проводящей системы во всех частях черешка.

Впервые в процессе изучения химического состава были выделены из густого экстракта цветков сирени обыкновенной и прошли идентификацию с применением таких методов анализа, как ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-, УФ-спектроскопия и масс-спектрометрия, а также по результатам проведенного кислотного гидролиза: маннит, актеозид; из экстракта коры сирени мелколистной: сирингин, салидрозид; из экстракта листьев сирени мелколистной: рутин.

Впервые разработаны современные методики анализа листьев и цветков сирени обыкновенной, основанные на определении доминирующих, а также диагностически значимых веществ – рутина, актеозида и хлорогеновой кислоты соответственно методами ТСХ и УФ-спектроскопии. Ранее подобные методики анализа изучаемых сырьевых единиц в литературе не упоминались. Обоснована необходимость обновления методики анализа суммы сирингина (элеутерозида В) в коре сирени обыкновенной методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Научная новизна данного диссертационного исследования подтверждена патентом Российской Федерации № 2752316 «Способ количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной» (заявка № 2020133908, от 14.10.2020 г., решение о выдаче патента 26.07.2021 г.) и патентом Российской Федерации № 2747483 «Способ количественного определения суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной» (заявка № 2020133910, от 14.10.2020г., решение о выдаче патента 05.05.2021 г.).

Теоретическая и практическая значимость. Такие методы современных фитохимических исследований, как тонкослойная хроматография и спектроскопия, оказываются наиболее эффективными в вопросе разработки подходов к стандартизации сырья листьев сирени. Наиболее целесообразным является использование стандартного образца (СО) рутина, который является доминирующим компонентом сырья листьев сирени обыкновенной и таким образом обуславливает точное установление подлинности. Метод спектроскопии (дифференциальный вариант) позволяет точно и экономично проводить оценку флавоноидного состава листьев сирени.

Фармакопейная статья на новый вид лекарственного растительного сырья «Сирени обыкновенной листья» стала результирующей всей исследовательской работы.

Методика количественного анализа коры сирени обыкновенной подверглась переосмыслению и последующему обновлению.

Методы ТСХ и спектрофотометрии стали основными методами качественного и количественного анализа, и на их основе были разработаны методики анализа фенолпропаноидов в цветках сирени обыкновенной. ТСХ-метод предполагает применение в качестве вещества сравнения СО актеозида и СО сирингина, что помогает в определении подлинности цветков по присутствию доминирующего класса БАС – фенолпропаноидов. Рекомендовано методом прямой спектрофотометрии проводить количественную оценку содержания суммы фенолпропаноидов с использованием СО хлорогеновой кислоты.

Методология и методы исследования. Основанная на более глубоком и детальном изучении и системном обобщении массива литературных данных в области фармакогностического исследования методология диссертационной работы обращена на разбор видов рода Сирень, а также оценку актуальности данной работы и степени предшествующей разработанности темы исследования. Поставленная цель и разработанный план проведения последующего диссертационного исследования стал определяющим для выбора объектов и методов.

Собранные на территории Самарской, Саратовской и Ульяновской областей и на территории Республики Казахстан разнообразные виды сырья растений из числа представителей рода Сирень, а также полученные из них водно-спиртовые извлечения, стали объектами изучения. Исследование проводилось с использованием новейших физических, физико-химических и цифровых методов. Использование программного обеспечения позволило сделать более точную системную обработку данных. Данный вопрос регламентируется государственной фармакопеей XIV издания.

Связь задач исследования с планами научных работ. Диссертационная работа выполнялась по плану, установленному в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (№ Гос. регистрации 115042810034 до 14.05.2019, наименование НИОКР - «Комплексные исследования по разработке лекарственных средств природного и синтетического происхождения»; с 14.05.2019 № Гос. Регистрации АААА-А19-119051490148-7, наименование НИОКР – «Химикофармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов»).

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Результаты изучения анатомии и морфологии, в том числе петиолярной, листьев сирени обыкновенной, среди которых основные диагностические признаки сирени обыкновенной и сирени венгерской, характеризующие их сходства и различия.
2. Результаты проведенного исследования по изучению химического состава цветков сирени обыкновенной, листьев и коры сирени мелколистной, в том числе и выделение индивидуальных веществ, с последующим структурным анализом.
3. Разработанные методики качественного анализа листьев и цветков сирени обыкновенной с применением методов ТСХ и УФ-спектроскопии.
4. Разработанные методики количественного определения суммы флавоноидов (метод дифференциальной спектрофотометрии) в листьях сирени обыкновенной, суммы фенолпропаноидов (метод прямой спектрофотометрии) в цветках сирени обыкновенной, сирингина в коре сирени обыкновенной (метод высокоэффективной жидкостной хроматографии).
5. Разработанный проект ФС «Сирени обыкновенной листья».

6. Результаты исследований по изучению фармакологических свойств, в том числе диуретической активности препарата «сирени обыкновенной листьев экстракт сухой» и препарата «сирени обыкновенной цветков экстракт густой».

Степень достоверности. Полученные с использованием множества различных современных и классических методов в результате многочисленных экспериментов данные подтверждают достоверность диссертационной работы.

Апробация работы. Материалы доложены и обсуждены на всероссийской научно-практической конференции «Аспирантские чтения» (г. Самара, 2020; 2021 гг.); на IV и V Межвузовских научно-практических конференциях «Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы» (г. Самара, 2019 - 2021 гг.); международной научной конференции "Перспективы лекарственного растениеводства" (г. Москва «ВИЛАР», 2018 г.); III Научно-практической конференции студентов и молодых ученых научно-образовательного медицинского кластера «Нижеволжский» "Физика и медицина: создавая будущее" (г. Самара, 2019 г.); Международной конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» «Современные достижения фармацевтической науки и практики» (г. Витебск, 2020 г.); на международной конференции «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» (г. Москва «ВИЛАР», 2020 и 2021 гг.); юбилейной международной конференции «90 лет – от растения до лекарственного препарата» (г. Москва «ВИЛАР», 2020 г.).

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 12 работ, из них в журналах, рекомендуемых ВАК, при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации – 4 статьи; получены 2 патента РФ на изобретение.

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационного исследования нашли применение в научном и учебном процессах в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России: на кафедре фармацевтической технологии с курсом биотехнологий, кафедре фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, кафедре управления и экономики фармации, кафедре химии Института фармации, в производственном процессе на ЗАО «Самаралектравы», ООО «Самарская фармацевтическая фабрика», в рабочем процессе в ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» и ООО «Лекарь».

Личный вклад автора. Автор лично получил все данные, которые приводятся в данной диссертационной работе.

Проведено исследование петлюлярной анатомии с гистологией листовой пластинки сирени обыкновенной и сирени венгерской на углубленном уровне. Исследование позволило выявить характерные диагностические признаки листовых органов данных растений.

Автор провел сравнительное фитохимическое исследование состава цветков сирени обыкновенной, волосистой, Мейера и Генри, в том числе сортовых форм сирени обыкновенной, из цветков сирени обыкновенной выделены с последующей идентификацией 2 индивидуальных вещества (маннит и актеозид), проведено исследование по разработке и обоснованию методик качественного анализа цветков сирени обыкновенной и методики количественного определения суммы фенилпропаноидов (метод прямой спектрофотометрии). Были рекомендованы к использованию методы ТСХ-анализа и УФ-спектрофотометрии для проведения качественного и количественного определения фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной.

Автор также провел сравнительное фитохимическое исследование состава листьев сирени обыкновенной, венгерской, амурской, волосистой, мелколистной, Звегинцева и Генри. Из листьев сирени мелколистной выделено с последующей идентификацией индивидуальное вещество (рутин).

В ходе проведения исследования разработаны методики стандартизации листьев сирени обыкновенной, в том числе метод количественного определения суммы флавоноидов (дифференциальная спектрофотометрия). Для определения подлинности по качественному составу и для количественного определения флавоноидов в листьях сирени обыкновенной автор рекомендует использовать методы УФ-спектроскопии.

Представлен разработанный проект новой фармакопейной статьи на изученный вид лекарственного растительного сырья - «Сирени обыкновенной листья».

Проведенное сравнение фитохимического состава коры с. обыкновенной и с. мелколистной показало перспективность последней в связи со сходством химического состава, в результате чего из коры сирени мелколистной были выделены с последующей идентификацией 2 прогнозируемых индивидуальных соединения (сирингин, салидрозид). Кроме того, было теоретически и практически обосновано обновление методики количественного определения сирингина методом ВЭЖХ в лекарственном растительном сырье «Сирени обыкновенной кора». Для выполнения целей качественного и количественного определения сирингина в коре сирени обыкновенной рекомендован метод ВЭЖХ-анализа.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Описанные в тексте диссертационной работы основные положения полностью соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2 - «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) по следующим пунктам: 2 – «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств»; 3 – «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления»; 5 – «Изучение вопросов рационального использования ресурсов лекарственного растительного сырья с учетом влияния различных факторов на накопление биологически активных веществ в сырье»; 6 – «Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе».

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 169 страницах машинописного текста, в 33 таблицах и проиллюстрирована 35 рисунками. Основное содержание работы состоит из введения, литературного обзора, объектов и методов исследования, 4 глав собственных исследований. В них описываются результаты, полученные автором в ходе исследований, кроме того, в заключительной части работы содержатся выводы и список литературы, который насчитывает 121 источник, в том числе 30 – на иностранном языке.

Глава 1 представляет собой обзор литературы, а именно отечественных и зарубежных источников, в которых содержатся сведения об актуальных на сегодняшний день исследованиях представителей рода Сирень (*Syringa* L.). Подробно описываются сведения об ареале произрастания видов рода Сирень, их химического состава, а также уже

разработанных методиках качественного и количественного анализа сырья сирени. Также данная глава содержит информацию о применении представителей рода Сирень как в официальной, так и в народной медицине России, опыт по применению сирени в других странах.

Глава 2 подробно описывает объекты и методы, участвовавшие в исследовании.

Глава 3 содержит освещение результатов сравнительного морфолого-анатомического изучения листьев сирени обыкновенной и листьев сирени венгерской, в том числе с использованием петиолярной анатомии.

Глава 4 посвящена результатам фитохимического исследования цветков, коры и листьев некоторых видов сирени, результаты выделения индивидуальных соединений из цветков сирени обыкновенной, сведения по исследованию их химического строения. Обсуждаются результаты по изучению перспективности внедрения новых видов, расширению ассортимента ЛРС за счет включения нефармакопейных видов сирени, основанные на данных сравнительного фитохимического анализа.

Глава 5 содержит данные о разработке методик качественного и количественного анализа листьев, цветков и коры сирени обыкновенной, кроме того, освещает вопрос определения показателей качества изучаемого сырья с последующей разработкой актуального проекта фармакопейной статьи «Сирени обыкновенной листья».

Глава 6 включает результаты фармакологического исследования диуретической активности сухого экстракта из листьев сирени обыкновенной и густого экстракта из цветков сирени обыкновенной.

Заключение диссертации подводит итоги работы в виде выводов по результатам исследований.

Приложения к диссертационной работе включают в себя сведения об актах внедрения, патентах, результаты микроскопических исследований, результаты ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, а также проект фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья «Сирени обыкновенной листья».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объектами исследования стали 11 образцов листьев различных видов сирени, собранные в Самарской области, а также на территории Республики Казахстан; 8 образцов цветков различных видов сирени, собранные в Самарской области; 3 образца коры сирени, собранные в Самарской и Саратовской областях.

В рамках диссертационной работы также исследованы водно-спиртовые извлечения (40, 60, 70% спирт) из листьев, цветков и коры сирени с использованием стандартных образцов (СО), полученных на кафедре фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России: рутин, хлорогеновая кислота, сирингин, салидрозид.

Морфолого-анатомические методы использованы для разработки показателей качества для определения подлинности заготовленных образцов ЛРС. Микроскопический анализ проводили в проходящем свете на белом поле с помощью микроскопов Motic DM-39C-N9GO-A и DM-111 (Польша).

Для количественного определения содержания действующих веществ в спиртоводных извлечениях из листьев и цветков сирени применяли методы дифференциальной и прямой спектрофотометрии с использованием СО.

Для количественного определения содержания доминирующего вещества в коре сирени обыкновенной использовался метод ВЭЖХ.

Метод ТСХ применяли с целью определения основных групп БАВ и разработки методик качественного анализа, для этого использовали пластины марки Sorbfil типа ПТСХ-АФ-А-УФ (Россия).

Идентификацию веществ, выделенных с использованием колоночной хроматографии, осуществляли с использованием УФ-, ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, а также различных химических превращений (кислотный гидролиз и др.).

Статистическую обработку полученных данных проводили методами вариационной статистики с оценкой однородности выборок, расчетом среднего значения (\bar{x}), дисперсии (S^2), стандартного отклонения (S), полуширины доверительного интервала (Δx) и относительной ошибки результата среднего определения ($\bar{\epsilon}$). Сравнение выборочных средних значений проводили с помощью t-критерия Стьюдента с тестом Левина для оценки однородности дисперсий. Величину уровня значимости (p) для t-критерия Стьюдента и теста Левина устанавливали равной 0,05. Статистический анализ проведен в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» ГФ РФ XIV издания с использованием программ STATISTICA 10.0 (USA) и ChemMetr 1.0.

Валидационная оценка разработанных методик определения влажности ЛРС способом ИК ТГ проведена в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» ГФ РФ XIV издания.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Морфолого-анатомическое исследование листьев сирени обыкновенной и сирени венгерской

Морфологические признаки листьев сирени обыкновенной и сирени венгерской обладают рядом отличий.

Определено, что к основным диагностическим признакам нового вида лекарственного растительного сырья «Сирени обыкновенной листья» относится наличие многочисленных погруженных многоклеточных грибовидных железистых трихом, прямоугольная форма поперечного среза жилки листа.

К признакам, имеющим важное диагностическое значение, также относится с-образная форма пучка, аномоцитный тип устьичных аппаратов, а также плотность их расположения, гипостоматичность, продольно морщинистая кутикула верхнего слоя эпидермиса, отсутствие друз и склерееид в мезофилле (рис. 1 и рис. 2).

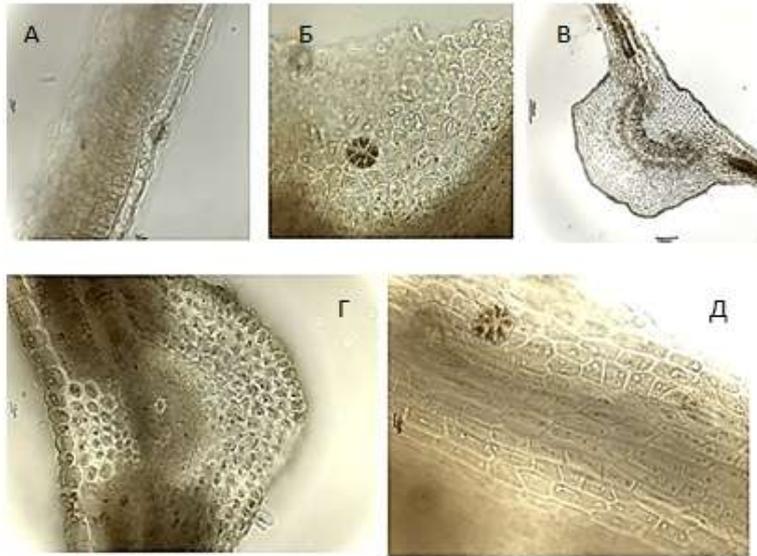


Рисунок 1 – Анатомические особенности листа сирени обыкновенной

А – Поперечный срез листа (400X); Б – Нижний эпидермис листа (400X); В – Поперечный срез центральной жилки листа (100X); Г - Поперечный срез жилки второго порядка листа (400X); Д – Верхний эпидермис листа (400X).

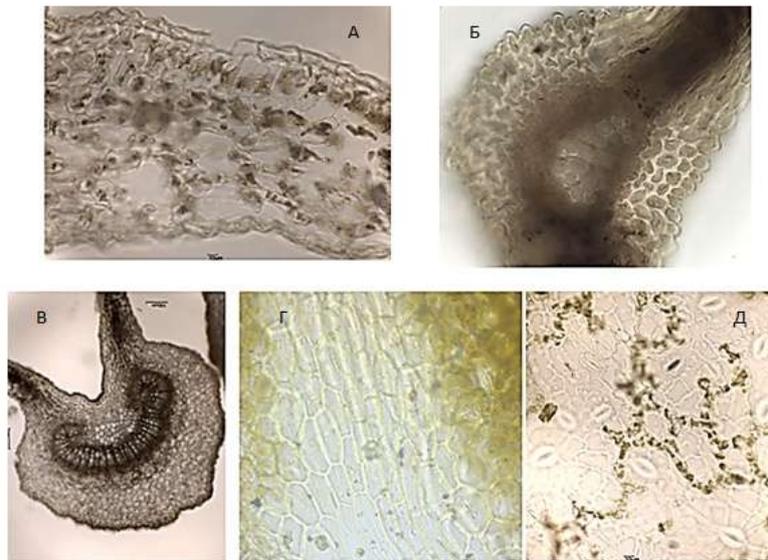


Рисунок 2 – Анатомические особенности листа сирени венгерской

А – Поперечный срез листа (400X); Б – Поперечный срез жилки второго порядка листа (400X); В – Поперечный срез центральной жилки листа (100X); Г - Верхний эпидермис листа (400X); Д – Нижний эпидермис листа (400X).

Анализ очертаний поперечных сечений черешков (рис. 3) позволил выявить видовую специфичность во всех трёх местах среза.

У обоих черешков поперечный срез имеет желобоватый тип строения, однако отличительной чертой двух видов является форма желобовидного углубления с адаксиальной стороны черешка. В частности, у с. обыкновенной желобовидное углубление округлое, у с. венгерской оно имеет узко-треугольную форму, сохраняющуюся от базальной до апикальной части черешка.



Рисунок 3 – Морфолого-анатомические особенности черешка сирени венгерской и сирени обыкновенной

А – Черешок сирени обыкновенной; 1 – апикальная часть (40X); 2 - медиальная часть (40X); 3 – базальная часть (40X); Б – Черешок сирени венгерской; 1 - апикальная часть (40X); 2 - медиальная часть (40X); 3 – базальная часть (40X).

2. Фитохимическое исследование веществ рода Сирень

2.1. Выделение индивидуальных веществ из листьев, цветков и коры сирени

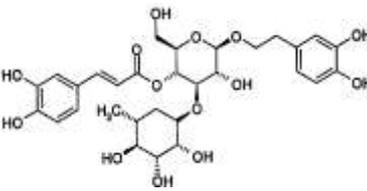
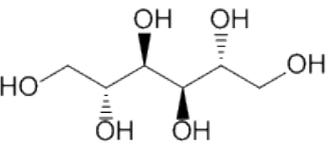
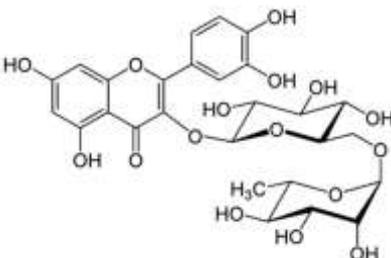
Индивидуальные вещества выделяли из густых экстрактов цветков сирени обыкновенной, коры сирени мелколистной и листьев сирени мелколистной методом адсорбционной колоночной жидкостной хроматографии. Схема проведения разделения представлена в таблице 1. Дополнительную очистку веществ проводили микроколоночным методом и методом перекристаллизации. Выделенные вещества анализировали различными методами, для того чтобы установить их структуру, а именно: ТСХ, спектрофотометрии, ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, а также с использованием различных химических превращений (кислотного гидролиза). Характеристики веществ, выделенных из цветков сирени обыкновенной (1 и 2), листьев сирени мелколистной (3) и коры сирени мелколистной (4 и 5) методом колоночной хроматографии, представлены в таблице 2.

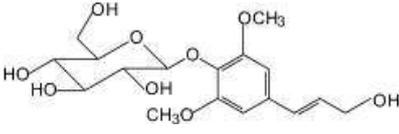
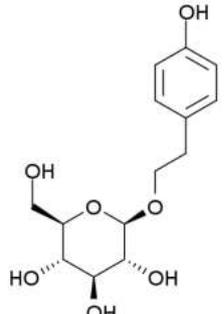
Таблица 1 – Схема элюирования веществ из цветков сирени обыкновенной методом колоночной хроматографии

№ фракции	Состав элюента; об. %		Объем
	хлороформ	спирт	
1-2	100	0	300
3-6	97	3	600

7-9	95	5	450
10-12	93	7	450
13-15	90	10	450
16-21	80	20	900
22-26	70	30	750
27-29	60	40	450
30-32	50	50	450
33-35	40	60	450
36-38	0	100	450

Таблица 2 – Характеристики веществ, выделенных из цветков сирени обыкновенной методом колоночной хроматографии

№ п/п	Название соединения, брутто формула	Химическая формула	Характеристики
1	Актеозид $C_{29}H_{36}O_{15}$		Светло-желтое аморфное вещество.
2	Маннит $C_6H_{14}O_6$		Белые игольчатые кристаллы. $T_{пл.} 166-168^{\circ}C$
3	Рутин $C_{27}H_{30}O_{16}$		Кристаллическое вещество желтого цвета. $T_{пл.} 236-238^{\circ}C$ $\lambda_{max} (EtOH), 258,$ $266 \text{ пл}, 362 \text{ нм}$

4	Сирингин $C_{17}H_{24}O_9$		Белые блестящие игольчатые кристаллы. $T_{пл.}$ 190-192°C (вода). λ_{max} (MeOH), 222, 266 нм.
5	Салидрозид $C_{14}H_{20}O_7$		Игольчатые кристаллы белого цвета. $T_{пл.}$ 160-162°C $[\alpha]_D^{20} - 32^\circ$ (MeOH) λ_{max} (MeOH), 224, 279 нм.

3. Разработка подходов к стандартизации сырья сирени обыкновенной

3.1. Разработка методик качественного и количественного анализа листьев сирени обыкновенной методом ТСХ и УФ-спектроскопии

С помощью ТСХ для листьев сирени обыкновенной была установлена зона адсорбции на уровне СО рутина. После обработки раствором ДСК и спиртовым раствором $AlCl_3$ и по характеру свечения в УФ-свете можно сделать вывод, что данное вещество флавоноидной природы, которое по подвижности окраски соответствует СО рутину.

Раствор извлечения имеет 2 максимума поглощения: коротковолновый при длине волны 280 ± 2 нм, и длинноволновый при 336 ± 2 нм (рис.4 и рис. 6). В присутствии спиртового раствора алюминия хлорида происходит bathochromic сдвиг длинноволновой полосы флавоноидов как и в случае рутина (рис. 5).

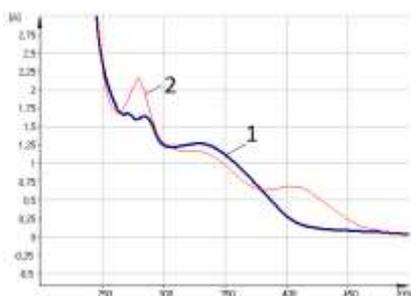


Рисунок 4 - Электронный спектр спирто-водного извлечения из листьев сирени обыкновенной:

1 - исходное извлечение; 2 – извлечение с добавлением $AlCl_3$.

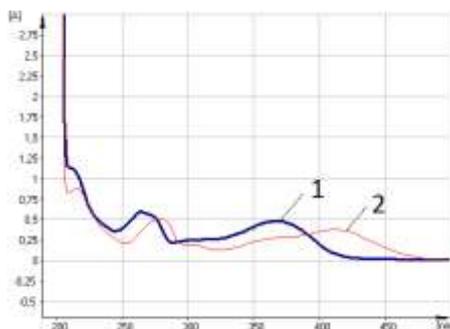


Рисунок 5 - Электронный спектр раствора СО рутина:
1 – исходный раствор; 2 – раствор с добавлением $AlCl_3$.

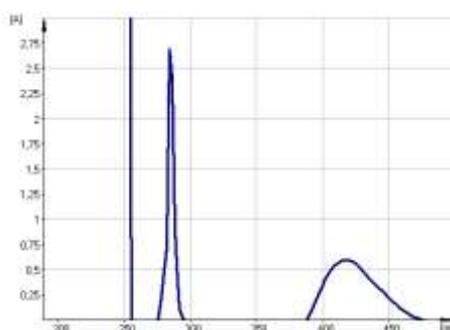


Рисунок 6 - Электронный спектр извлечения из листьев сирени обыкновенной (дифференциальный вариант).

Наиболее оптимальными условиями экстрагирования являются следующие: экстрагент – 70% спирт; время экстракции – 45 мин; соотношение сырья и экстрагента 1:50; степень измельчения 1 мм.

Разработанные методики качественного и количественного анализа включены в проект ФС на новый вид лекарственного растительного сырья «Сирени обыкновенной листья». В таблицах 3 и 4 представлена валидационная оценка методики.

Таблица 3 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной

f	\bar{X}	S	$P, \%$	$t(P,f)$	$\pm X$	$E, \%$
15	3,05	0,3367	95	2,14	$\pm 0,19$	$\pm 6,12$

Таблица 4 – Содержание суммы флавоноидов в образцах листьев сирени обыкновенной

№ образца	Характеристика образца сырья	Содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом сырье (%) в пересчете на рутин
1	Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2015 г.)	$3,79 \pm 0,23$
2	г. Уральск (октябрь 2016 г.)	$2,94 \pm 0,18$
3	Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2016 г.)	$3,89 \pm 0,24$
4	г. Тольятти (май 2018 г.)	$2,76 \pm 0,17$
5	Пензенская обл., Никольский р-н (май 2019 г.)	$3,12 \pm 0,19$

3.2. Разработка методик качественного и количественного анализа цветков сирени обыкновенной методом ТСХ и УФ-спектроскопии

С помощью ТСХ для цветков сирени обыкновенной была установлена зона адсорбции на уровне СО хлорогеновой кислоты. После обработки раствором ДСК и по характеру свечения в УФ-свете можно сделать вывод, что данное вещество фенолпропаноидной природы, которое по подвижности окраски соответствует СО хлорогеновой кислоте.

Раствор извлечения из цветков сирени обыкновенной имеет максимум поглощения при длине волны 330 ± 2 нм (рис. 7), как и в случае хлорогеновой кислоты (рис. 8).



Рисунок 7 - Электронный спектр водно-спиртового извлечения из цветков сирени обыкновенной

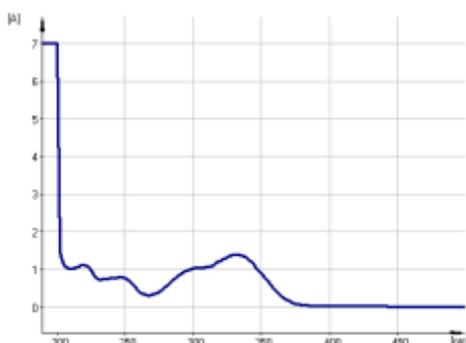


Рисунок 8 - Электронный спектр раствора СО хлорогеновой кислоты

Нами была разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на СО рутина с использованием дифференциальной спектрофотометрии на базе кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии СамГМУ. Подобраны оптимальные условия экстракции флавоноидов, входящих в состав листьев сирени обыкновенной: экстрагент этиловый спирт 60% концентрации; соотношение «сырьё-экстрагент» – 1:100; время экстракции – 30 мин на кипящей водяной бане, степень измельчения сырья 1 мм.

Методика количественного определения суммы фенолпропаноидов в цветках сирени обыкновенной. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 100 мл 60 % этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 45 мин.

Затем колбу охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (красная полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (испытуемый раствор А). Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 330 нм.

Приготовление раствора стандартного образца хлорогеновой кислоты. Около 0,020 г (точная навеска) хлорогеновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А хлорогеновой кислоты). Измеряют оптическую плотность раствора А на спектрофотометре при длине волны 330 нм. Содержание суммы фенилпропаноидов в пересчете на хлорогеновую и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{A * m_0 * 100 * 25 * 1 * 100 * 100}{A_0 * m * 50 * 100 * (100 - W)}$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора СО хлорогеновой кислоты;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса ГСО хлорогеновой кислоты, г;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

В случае отсутствия стандартного образца хлорогеновой кислоты целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения – 497.

$$x = \frac{A * 100 * 50 * 100}{m * 497 * (100 - W)}$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса сырья, г;

497 – удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) СО хлорогеновой кислоты при 330 нм;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной представлены в таблице 5. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 1,89$ % (табл. 5).

Таблица 5 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной

f	\bar{X}	S	$P, \%$	$t(P, f)$	$\pm X$	$E, \%$
12	5,85	0,16	95	2,19	$\pm 0,11$	$\pm 1,89$

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса фенилпропаноидов цветков сирени обыкновенной и хлорогеновой кислоты. Линейность методики определяли для серии растворов хлорогеновой кислоты (с концентрациями в диапазоне от 0,00880 до 0,03520 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0,98953.

Таблица 6 - Содержание суммы фенилпропаноидов в образцах цветков сирени обыкновенной

№ п/п	Характеристика образца сырья	Содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом сырье (в %) в пересчете на рутин
1.	Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2015 г.)	6,19±0,12
2.	г. Уральск (май 2016 г.)	5,78±0,11
3.	Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2016 г.)	6,01±0,12
4.	Самарская обл., г. Тольятти (май 2018 г.)	5,54±0,11
5.	Пензенская обл., Никольский р-н (май 2019 г.)	5,95±0,11

Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора хлорогеновой кислоты с известной концентрацией (25 %, 50 % и 75 %) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 98 %.

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов цветков сирени обыкновенной (табл. 6) и при этом определено, что содержание суммы фенилпропаноидов варьирует от 5,58 % до 6,19 %, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для сырья данного растения содержание суммы фенилпропаноидов не менее 5,0 %.

3.3. Разработка методик качественного и количественного анализа коры сирени обыкновенной методами ТСХ, УФ-спектроскопии и ВЭЖХ

Определено, что в условиях ВЭЖХ-анализа время удерживания пика сирингина на хроматограммах стандартного образца сирингина и водно-спиртового извлечения из коры сирени обыкновенной составило 4,046±0,070 мин и 4,092±0,082 мин соответственно (рис. 9 и рис.10). При добавлении раствора сирингина в извлечение на хроматограмме обнаруживается увеличение интенсивности пика сирингина по сравнению с интенсивностью соответствующего пика в исходном испытуемом растворе (рис. 10).

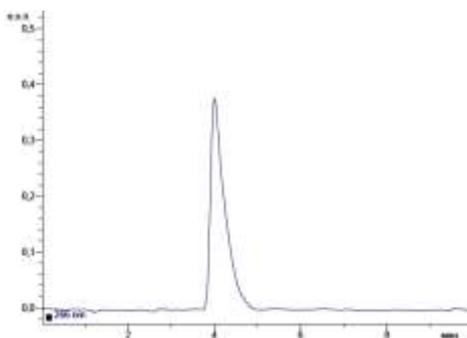


Рисунок 9 - ВЭЖХ-хроматограмма раствора стандартного образца сирингина

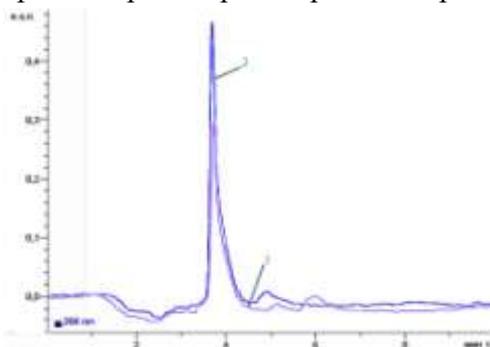


Рисунок 10 - ВЭЖХ-хроматограмма исходного водно-спиртового извлечения из коры сирени обыкновенной -1; после добавления раствора стандартного образца сирингина – 2

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность. Специфичность методики определялась по соответствию времен удерживания стандартного образца сирингина и пика, соответствующего сирингину, на ВЭЖХ-хроматограмме исследуемых образцов, а также по разрешению между пиками и фактору асимметрии пика сирингина. Показано, что растворитель и подвижная фаза не искажают результаты анализа. Метрологические характеристики методики представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Метрологические характеристики методики количественного определения сирингина в коре сирени обыкновенной

f	X_{cp}	S	$P, \%$	$t(P, f)$	ΔX	$E, \%$
10	5,37	0,24291	95	2,23	$\pm 0,17$	$\pm 3,20$

С использованием данной методики был проанализирован ряд образцов коры сирени обыкновенной (табл. 8). Содержание сирингина варьировало от 2,55% до 5,38%.

Таблица 8 - Содержание сирингина в образцах коры сирени обыкновенной

№п/п	Место и время сбора сырья	Содержание сирингина, %
1	Ботанический сад Самарского университета, заготовлено в мае 2020 г.	2,55 \pm 0,11
2	Самарская область, с. Ермаково, заготовлено в мае 2020 г.	2,98 \pm 0,09
3	Самарская область, с. Верхний Сускан, заготовлено в мае 2020 г.	4,12 \pm 0,21
4	Саратовская область, с. Натальино, заготовлено в мае 2018 г.	5,38 \pm 0,16

Данная методика была применена для определения содержания сирингина в образцах экспериментального препарата «Сирени настойка» (рис. 11).

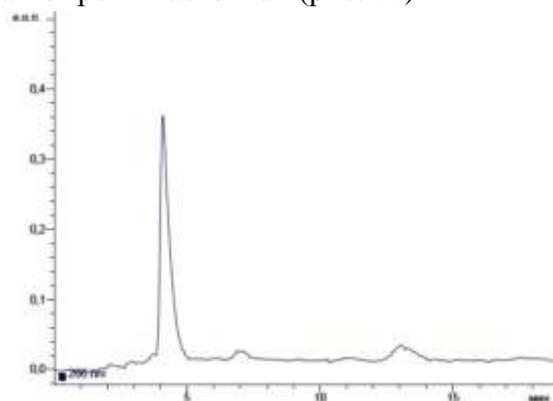


Рисунок 11 - ВЭЖХ-хроматограмма экспериментального препарата «Сирени коры настойка» (экстрагент 40% этанол, соотношение «сырье:экстрагент» 1:5)

Содержание сирингина в образцах настойки составляло $0,45 \pm 0,03$ %. Метрологические характеристики методики показывают, что ошибка единичного определения содержания сирингина в настойке сирени обыкновенной с доверительной вероятностью 95 % составляет $\pm 5,0$ % (табл. 9).

Таблица 9 – метрологические характеристики методики количественного определения сирингина в настойке коры сирени обыкновенной

f	X_{cp}	S	$P, \%$	$t(P, f)$	ΔX	$E, \%$
10	0,45	0,031966	95	2,23	$\pm 0,02$	$\pm 5,0$

4. Исследование фармакологической активности

Для эксперимента были отобраны 30 белых беспородных крыс, которых распределили на 3 группы. Только крысы-самцы массой приближенные к отметке в 200 г были выбраны для участия в эксперименте. Кормление и содержание лабораторных животных проводилось в стандартном режиме (виварий). Водобеспечение животных не ограничивалось.

В 4-х часовом хроническом эксперименте исследования ГЭ цветков сирени отмечалось подтвержденное увеличение диуреза (на 20%). Условия эксперимента: однократное внутрижелудочное введение; доза 10 мг/кг; эксперимент проводился на фоне 3% водной нагрузки. Животные были поделены на контрольную и опытную группы.

В 4-х часовом хроническом эксперименте СЭ листьев сирени не отмечалось изменения выделительной функции. Условия проведения эксперимента аналогичные.

В суточном хроническом эксперименте исследования ГЭ цветков сирени отмечалось повышение креатининуризы (на 24%). Условия проведения эксперимента аналогичные.

В суточном хроническом эксперименте исследования СЭ листьев сирени отмечалось понижение диуреза (на 42%). Условия проведения эксперимента аналогичные.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного сравнительного фармакогностического исследования изученных нами некоторых видов и сортов рода Сирень (*Syringa* L.) можно сделать следующие общие выводы:

1. Сравнительное исследование анатомо-морфологического строения листовых пластинок сирени обыкновенной и сирени венгерской позволило впервые выявить основные таксономически и диагностически значимые отличительные признаки, актуальные в плане определения подлинности целевого сырья - листьев сирени обыкновенной, в случае которых диагностически значимыми признакам относятся: очертания центральной жилки прямоугольной формы с заметно утолщенным слоем колленхимы с адаксиальной стороны, менее выраженным с абаксиальной; большое количество погруженных грибовидных пигментированных железистых трихом по обеим сторонам листа; равное соотношение губчатого и столбчатого мезофилла в толще листовой пластины. Для черешка сирени обыкновенной установлены основные отличительные признаки: отличия желобовидного углубления, и строение центрального пучка в медиальной части черешка.

2. Сравнительное исследование различных сырьевых частей сирени обыкновенной, а именно коры, листьев, цветков и почек сирени обыкновенной методом ТСХ подтверждает наличие различных БАС, что подтверждает возможность комплексного использования лекарственного растения сирени обыкновенной.

3. Из цветков сирени обыкновенной методом колоночной хроматографии, а также с помощью реакций кислотного и ферментативного гидролиза и с применением различных физико-химических методов анализа впервые для данного вида сырья выделены и идентифицированы актеозид (8-О-β-D-глюкопиранозид (4''-О-α-L-рамнопиранозил-3''-О-кофеил)-3,4-дигидроксифенилэтанола) и маннит. Из листьев сирени мелколистной выделен рутин (кверцетин-3-О-(6''-α-L-рамнопиранозил)-β-D-глюкопиранозида. Из коры сирени мелколистной впервые выделены сирингин и салидрозид (4-О-β-D-глюкопиранозид 4-гидроксифенилэтанола).

4. В результате проведения сравнительного фармакогностического исследования цветков сирени обыкновенной, сирени волосистой, сирени Генри и сирени Мейера методом прямой спектрофотометрии, определено количественное содержание фенилпропаноидов в цветках сирени с использованием СО хлорогеновой кислоты. В результате исследования цветков различных видов сирени были выявлены наиболее перспективные: сирень обыкновенная, сирень Генри и сирень Мейера.

5. Определены наиболее перспективные виды сирени с точки зрения содержания действующих веществ в листьях. К ним можно отнести сирень обыкновенную, сирень амурскую, сирень мелколистную. Сирень венгерская определяется как примесный вид.

6. Применение тонкослойной хроматографии, как основного метода для определения подлинности листьев сирени обыкновенной обосновано с точки зрения проявления аналитического эффекта. Для большей достоверности исследования целесообразно использовать рутин в качестве СО, а также детекцию в УФ-свете и проявление реактивами. В свою очередь ТСХ анализ цветков сирени обыкновенной логичнее проводить с использованием СО хлорогеновой кислоты и актеозида, так как ведущей группой БАС в них являются фенилпропаноиды. При спектрофотометрическом исследовании наблюдаются соответствующие веществам-стандартам максимумы поглощения (рутин и хлорогеновая кислота соответственно).

7. Одним из результатов работы стала разработка и регистрация новой методики количественного определения суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии в листьях сирени обыкновенной. Она была учтена в разработке проекта нормативной документации. Установлен нижний предел содержания суммы флавоноидов. С доверительной вероятностью 95% ошибка единичного определения составляет $\pm 6,12\%$. Также в результате исследований была разработана и зарегистрирована методика количественного определения суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной методом прямой спектрофотометрии. В качестве нижнего предела для сырья данного растения рекомендовано содержание фенилпропаноидов не менее 5,0%. Ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 1,89\%$.

8. Исследования показали необходимость обновления методики количественного определения сирингина в коре сирени обыкновенной. Содержание сирингина в сырье данного растения варьирует от 0,82 % до 1,20 %, что было установлено методом ВЭЖХ. Ошибка единичного определения сирингина в коре сирени обыкновенной с доверительной вероятностью 95 % составляет $\pm 3,20\%$.

9. Впервые разработан проект нормативной документации на новый вид лекарственного растительного сырья – «Сирени обыкновенной листья». Он представляет собой фармакопейную статью, в которую вошли данные, полученные в результате фармакогностических исследований.

10. Исследования фармакологической активности позволили выявить положительное креатининуретическое действие для густого экстракта цветков сирени обыкновенной. Также было установлено антидиуретическое действие для сухого экстракта из листьев сирени обыкновенной.

Практические рекомендации. Результаты, полученные в ходе диссертационной работы, могут быть использованы в учебном процессе по дисциплинам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия», а также в центрах сертификации и контроля качества лекарственных средств и на фармацевтических предприятиях, специализирующихся в области создания и стандартизации ЛРС и ЛРП, так как позволяют усовершенствовать подходы к стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Проведение диссертационного исследования имеет научно-практическое значение для фармакогнозии и фармацевтической химии, в том числе с целью дальнейшего изучения химического состава растений, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды, а также разработки объективных методик анализа и подходов к стандартизации, разработки препаратов на их основе и изучения их фармакологической активности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Серебрякова, А.Д. Разработка подходов к стандартизации листьев сирени обыкновенной / А. Д. Серебрякова, В. А. Куркин // **Аспирантский вестник Поволжья.** – 2020. – № 1-2. – С. 158-163.

2. Серебрякова, А.Д. Разработка подходов к стандартизации цветков сирени обыкновенной / А.Д. Серебрякова, В.А. Куркин // **Фармация.** – 2021. – Т. 70, № 3. – С. 26-30.

3. Куркин, В.А. Разработка подходов к стандартизации коры сирени обыкновенной / В.А. Куркин, Т.К. Рязанова, А.Д. Серебрякова // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии**. – 2021. – Т. 24, № 7. – С. 37-44.

4. Серебрякова А.Д. Фитохимическое исследование листьев представителей рода Сирень (*Syringa L.*) / А.Д. Серебрякова, В.А. Куркин // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2021. – №5-6. – С. 58-64.

5. Серебрякова, А.Д. Сравнительный морфологический анализ некоторых видов рода сирень (*Syringa L.*) / А.Д. Серебрякова, В.А. Куркин // **Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы** : Сборник материалов IV Межвузовской научно-практической конференции, посвященной 100-летию Самарского государственного медицинского университета, Самара, 28 сентября 2019 года / Под редакцией В.А. Куркина. – Самара: Самарский государственный медицинский университет, 2019. – С. 180-184.

6. Серебрякова, А.Д. Сравнительный качественный анализ некоторых сортов сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris L.*) / А.Д. Серебрякова // **Актуальные вопросы современной медицины и фармации** : Материалы 72-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых, Витебск, 12–13 мая 2020 года / Витебский государственный ордена "Дружбы народов" медицинский университет. – Витебск: Витебский государственный медицинский университет, 2020. – С. 805-807.

7. Серебрякова, А.Д. Сравнительное исследование флавоноидного состава листьев некоторых видов рода *Syringa* / А.Д. Серебрякова, В.А. Куркин // **Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения** : Сборник научных трудов Международной научной конференции, Москва, 17–18 декабря 2020 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2020. – С. 274-279.

8. Серебрякова, А.Д. Сравнительный качественный анализ органов сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris L.*) / А.Д. Серебрякова // **Аспирантские чтения - 2020. Молодые ученые: научные исследования и инновации** : Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию з.д.н. РФ профессора А.А. Лебедева, Самара, 15 октября 2020 года. – Самара: ООО «СамЛюксПринт», Самарский государственный медицинский университет, 2020. – С. 272-276.

9. Куркин, В.А. Сравнительное исследование химического состава надземных органов сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris L.*) / В.А. Куркин, Т.К. Рязанова, А.Д. Серебрякова // **90 лет - от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы** : Сборник материалов юбилейной международной научной конференции, Москва, 10–11 июня 2021 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2021. – С. 237-244.

10. Серебрякова А.Д. Сравнительное исследование флавоноидного состава листьев некоторых видов рода *Syringa* / А.Д. Серебрякова, В.А. Куркин // **Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: Сборник трудов международной научной конференции молодых ученых**, Москва, 17–18 декабря 2020 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2020. – С. 274-280.

11. Серебрякова А.Д. Тонкослойная хроматография как метод качественного анализа сырья сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris L.*) / А.Д. Серебрякова // **Физика и медицина:**

создавая будущее. Сборник материалов III научно-практической конференции студентов и молодых ученых научно-образовательного медицинского кластера «Нижеволжский», Самара, декабрь 2019 года. – Самара: ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2019. – С. 227-229.

12. Серебрякова А.Д. Подходы к стандартизации сырья наземной части сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) / А.Д. Серебрякова, В.А. Куркин, Т.К. Рязанова // Фармацевтическое образование СамГМУ. История, современность, перспективы: сборник трудов научно-практической онлайн-конференции с международным участием, Самара, 2021 год. – Самара: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение Высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2021. – С468-475.

ПАТЕНТЫ

1. Патент № 2752316 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/63, А61К 31/352, G01N 33/15. Способ количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной : № 2020133908 : заявл. 14.10.2020 : опубл. 26.07.2021 / В. А. Куркин, А. Д. Серебрякова ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

2. Патент № 2747483 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/63, G01N 21/00. Способ количественного определения суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной : № 2020133910 : заявл. 14.10.2020 : опубл. 05.05.2021 / В. А. Куркин, А. Д. Серебрякова ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.