

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

СЕРЕБРЯКОВА АНАСТАСИЯ ДМИТРИЕВНА

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

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
Куркин Владимир Александрович,
доктор фармацевтических наук,
профессор

Самара - 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. СВЕДЕНИЯ ОБ ИССЛЕДОВАНИЯХ РОДА СИРЕНЬ (<i>SYRINGA</i> <i>L.</i>) (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	18
1.1. Происхождение рода сирень.....	19
1.2. Ботаническое описание	22
1.3. Культивирование.....	25
1.4. Сбор и заготовка.....	27
1.5. Применение сирени в медицине и отраслях народного хозяйства..	28
1.6. Химический состав и стандартизация коры, листьев и цветков сирени обыкновенной.....	29
1.7. Фармакологические свойства биологически активных соединений сирени.....	35
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1	35
ГЛАВА 2. МЕТОДЫ И ОБЪЕКТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В	38
ИССЛЕДОВАНИИ	38
2.1. Объекты исследования	38
2.2. Методы исследования.....	40
2.2.1. Методики, используемые при проведении анатомо- морфологического анализа	40
2.2.2. Методы анализа с использованием химических реакций.....	41
2.2.3. Анализ с применением хроматографических методов	44
ГЛАВА 3. МОРФОЛОГИЯ И АНАТОМИЯ ЛИСТЬЕВ СИРЕНИ	46
3.1. Морфологическое и анатомическое сравнение листьев	46
сирени обыкновенной и сирени венгерской	46
3.1.1 Морфолого-анатомические особенности листьев сирени обыкновенной.....	47

3.1.2. Морфолого-анатомические особенности листьев сирени венгерской.....	50
3.2. Сравнительная петиолярная анатомия сирени венгерской и сирени обыкновенной.....	54
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3	56
ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЯ ФИТОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ СЫРЬЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ И СОРТОВ РОДА СИРЕНЬ.....	57
4.1. Сравнительное фитохимическое исследование надземных органов сирени обыкновенной методом тонкослойной хроматографии	59
4.2. Сравнительное фитохимическое исследование листьев различных видов сирени.....	60
4.3. Фитохимическое сравнение цветков различных видов и сортов сирени.....	68
4.3.1. Сравнение методом ТСХ	68
4.3.2. Сравнение спектрофотометрическим методом.....	70
4.4. Проведение фитохимического анализа при помощи выделения индивидуальных веществ из листьев, цветков и коры	73
сирени.....	73
4.4.1. Анализ цветков сирени обыкновенной	74
4.4.2. Исследование фракций цветков сирени обыкновенной	76
4.4.3. Выделение веществ из листьев и коры сирени мелколистной	77
4.4.4. Исследование фракций, содержащих индивидуальные вещества, выделенные из листьев и коры сирени мелколистной	78
4.4.5. Идентификация выделенных веществ и их характеристики	79
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	83

ГЛАВА 5. ВОПРОСЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ, РАЗРАБОТКА СОВРЕМЕННЫХ ПОДХОДОВ	85
5.1. Стандартизация листьев сирени	85
Результаты исследований могут быть включены в проект фармакопейной статьи «Сирени обыкновенной листья»	92
5.2. Разработка методик качественного и количественного анализа цветков сирени обыкновенной методом ТСХ и УФ-спектроскопии	92
5.3. Разработка методик качественного и количественного анализа коры сирени обыкновенной методами ТСХ, УФ-спектроскопии и ВЭЖХ	98
5.4 Исследование общих показателей качества лекарственного растительного сырья «Сирени обыкновенной листья»	107
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5	110
ГЛАВА 6. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ	112
6.1. Фармакологическое исследование диуретической активности густых экстрактов цветков сирени обыкновенной и густого экстракта листьев сирени обыкновенной	112
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6	115
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	117
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	121
ПРИЛОЖЕНИЯ	134
Приложение 1. Сравнительное анатомо-морфологическое исследование листьев сирени обыкновенной и сирени венгерской	135
Приложение 2. Акты о внедрении результатов диссертационного исследования	139

Приложение 3. ЯМР – и масс-спектры индивидуальных соединений, выделенных из цветков сирени обыкновенной, коры и листьев сирени мелколистной	149
Приложение 4. Проект фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья «Сирени обыкновенной листья»	158
Приложение 5. Патенты изобретений.....	168

ВВЕДЕНИЕ

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 коричных 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 наиболее 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.

В настоящее время отсутствуют также зарегистрированные методики стандартизации листьев и цветков сирени обыкновенной. Исследования в данной области 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 новых 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 синрингина 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, присутствия железок, а также склеренхимного армирования 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: синрингин, 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 вещества – 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 (элютерозида 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 фенилпропаноидов 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 – фенилпропаноидов. Рекомендовано методом прямой спектрофотометрии проводить количественную оценку содержания суммы фенилпропаноидов 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 фенилпропаноидов (метод прямой спектрофотометрии) в цветках сирени обыкновенной, синрингина 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 петиолярной 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 практи-

чески 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 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 се-

годняшний 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, резуль-

таты ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, а также проект фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья «Сирени обыкновенной листья».

ГЛАВА 1. СВЕДЕНИЯ ОБ ИССЛЕДОВАНИЯХ РОДА СИРЕНЬ (*SYRINGA L.*) (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Род Сирень (*Syringa L.*) семейство Маслиновых - *Oleaceae*, на сегодняшний день может насчитать около 30 видов, распространенных в странах Европы и Азии [8]. В средней полосе России свободно выращиваются почти все известные и выведенные виды сирени. Сирень обыкновенная и сирень венгерская в средней полосе являются самыми распространенными.

Различные виды сирени издавна применяются в народной медицине. На данный момент кора сирени обыкновенной применяется как источник получения стандартного образца – сирингина, используемого в стандартизации элеутерококка колючего. Учеными СамГМУ разработаны препараты на основе коры сирени – сирени сироп и сирени настойка [24].

Ранее уже было зарегистрировано лекарственное растительное сырье «Кора сирени обыкновенной» (ВФС 42-2106-92) как источника получения государственного стандартного образца сирингина. Сирень обыкновенная является широко известным декоративным растением, культивируемым с целью озеленения во многих городских парках, аллеях, а также на частных территориях.

Большое количество биологически активных соединений (БАС), как и кора, могут содержать и другие морфологические единицы растения, которые на данный момент уже используются в народной медицине: листья, цветки и почки.

Сирень имеет широкое видовое разнообразие. На территории Российской Федерации, кроме сирени обыкновенной, произрастает большое количество видов, которые также вызывают большой научный интерес.

Большую перспективность в вопросах дальнейшего изучения представляют сирень венгерская, сирень амурская, сирень Мейера, сирень Генри, сирень мелколистная, сирень волосистая, культивируемые в России, в том числе в Самарской области. Кроме того, требуют изучения различные сорта сирени обыкновенной с целью изучения пригодности их применения в медицине.

1.1. Происхождение рода Сирень (*Syringa* L.)

Выделяют 3 очага естественного произрастания видов сирени – Восточно-Азиатский (24 вида сирени), Балкано-Карпатский (2 вида) и Гималайский (2 вида). Кроме этого в естественном виде сирень растет по нижнему течению реки Дунай, а также в Южных Карпатах. Для нее типично произрастание по соседству с дубами и грабами. В дикой природе произрастает на известковых и силикатных почвах [8, 19].

Свое название род сирени получил от греческого слова *syrix*, что в переводе означает трубка, так как из древесины данного кустарника пастухи изготавливали трубки для курения и звучные свирелих[19].

В западно-европейском регионе и Америке сирень называют *Lilac*, что в переводе означает лиловый, голубой, в связи с гаммой окраски соцветий дикой сирени.

В некоторых областях России сирень ранее называли синель.

На территории Ирана (Персии) и Турции, которые долгие годы считали родиной сирени, распространена под названием «лисий хвост». аккуратно сложенные и пышные метелки персидской и китайской сирени могут напомнить распушенный лисий хвост [22].

Сирень — очень популярное и неприхотливое цветущее растение как в России, так и во всем мире: в Америке, в Европе, в Азии. В Европе она наиболее распространена в странах Прибалтики, на Украине.

В европейском регионе сирень распространялась в культуре с XVI века. В то время было известно два ее вида — с. обыкновенная и с. персидская.

В России дикая и культурная сирень растет почти повсюду: в средней полосе и ближе к северу, очень распространена на Кольском полуострове, в Сибири, в Крыму и на Черноморском побережье Кавказа [8].

В Средней Азии и засушливых регионах сирень растет в условиях орошения или в тени других деревьев. Сирень широко распространялась в юго-восточных странах Азии, в предгорьях Индии, в Афганистане [59].

В Китае издревле «воспевали» цветущее растение, обладающее сверхъестественными целебными свойствами. В одном из китайских сказаний XI-XII веков на священной горе росло прекраснейшее и живительное растение – сирень.

В 1826 г. при исследовании Балканского полуострова в горных лесах на западе Румынии были обнаружены естественные заросли сирени обыкновенной. В 1841 г. ее находят в горных районах Болгарии между Старой Загорой и Казанлыком, и в Герцеговине, в Трансильвании и в Родопах [19].

Русские ученые-ботаники и путешественники внесли огромный вклад в сбор и в описание видового разнообразия сирени. Так были собраны в местах естественного произрастания 12 видов сирени впервые.

Наибольший вклад внесли такие известные русские, как Турчанинов, академик Комаров, Максимович.

Выявлены три основных очага естественного произрастания и распространения сирени.

Сирени Восточно-Азиатского очага. Очаг насчитывает 28 видов с большим числом разновидностей. Множество видов найдено в Китае. Эпицентром считаются гористые западные провинции Гуаньси, Сычуань, Юннань.

Среди сиреней Восточно-Азиатского очага особенно выделяется крайне своеобразная группа позднецветущих сиреней, отличающихся от остальных видов сирени по морфологическим и биологическим признакам. К ней относятся: Фори, амурская, японская.

Отдельный вид позднецветущей сирени, сирень японская, зародился на Японских островах. Ее также называют японский трескун (из-за сильного треска при горении её древесины). **Сирень японскую** (*Syringa japonica* (Maxim.) Decne.) и **сирень амурскую** (*Syringa amurensis* Rupr.) относят к надвиду сетчатых сиреней (*Syringa reticulata*). Это пышные деревья, растущие на склонах гор, а также часто встречаемые в местных лиственных лесах. Их высота может достигать до 15 м, но ствол дерева остается довольно тонким и изящным, его не превышает 40 см. Великолепное по красоте цветение этих

видов можно наблюдать не весной, а летом, ближе к июлю. Цветы данных видов имеют кремово-белые оттенки, кроме того они обладают ярко выраженным медовым запахом. Кроме декоративных качеств данные виды отличает повышенная зимостойкость, что позволяет выращивать их практически в любом климате, кроме засушливых регионов, так как виды характеризуются низкой засухоустойчивостью. При недостатке влаги растения замедляют рост, перестают цвести и плодоносить. Обладающие повышенной всхожестью семена значительно упрощают процедуру культивирования и распространения. Из недостатков можно указать долгий период созревания – цвести деревья начинают только на 8 год жизни [19, 81].

Сирень Фори (*Syringa Fauriei* Lev) является малораспространенным видом. Этот вид дикорастущих сиреней родом из Кореи. Также относится к древовидным формам. Может достигать до 20 м в высоту. Отличается обильным облиствлением. Отличается сильным опущением листьев [19].

Гималайский очаг насчитывает 2 вида: гималайская, афганская. Из-за континентального климата эти виды приспособились к долгим засухам и сложным условиям существования.

Сирень гималайская (*Syringa emodi* Wall) берет свое происхождение от Северо-Западного Гималайского региона и в землях Афганистана. Данный вид приспособлен произрастать в высокогорьях (около 4000 м над уровнем моря). Климатически приспособлен к субальпийскому типу местности. Отлично подходит для культивирования в Уральском и Сибирском регионах. Довольно хорошо переносит заморозки, но, кроме того, является и засухоустойчивым видом. Это крупный кустарник, высота которого достигает до 5 м, вертикальной формы. К сожалению, данный вид не отличается особыми декоративными свойствами – цветки лиловые, маленькие и источающие довольно неприятный запах. В зависимости от региона и условий среды цветки могут иметь также окраски от светло-малиновой до ярко розовой. Относится к опушенным видам [8, 19, 22].

Сирень афганская (*Syringa afghanica* С.К.Сcheid.). Относится к раскидистым кустарникам. Крона имеет пышные и воздушные очертания. Ростом не превышает обычно 3 м. Является декоративным видом. Цветки красивые, собранные в сиреневые метелки, кроме того они способны источать приятный аромат. Главным отличием этого вида является необычная окраска веток - пурпурно-коричневая, что придает ему особый декоративный шарм. Листочки узкие, вытянутой формы, почти ланцетовидные [8, 19, 22].

Балкано-Карпатский очаг насчитывает 2 вида: сирень обыкновенную, сирень венгерскую. Эти два вида широко распространены в Европе, а их разновидности и большое огромное количество сортов сирени обыкновенной используются в различных частях земного шара. Сирень обыкновенная имеет 4 формы, сирень венгерская представлена несколькими разновидностями [19, 22, 59].

Сирень венгерская (*Syringa josikaea* J.Jacq. ex Rchb.) – это вид родом с Карпатских гор и Трансильвании. Виду свойственно местообитание по берегам рек, в заболоченных регионах и на каменистых склонах пойм. Самый влаголюбивый вид, но все-таки неплохо переносит засуху и загазованность воздуха, что делает её неизменной в озеленении промышленных зон. Особенности произрастания обуславливают длинные вертикальные узкосжатые побеги, побольшей части облиственные только на верхушках и оголенные в нижней части. Высотой способны достигать до 5 м, имеют кустарниковый тип строения. На коре побегов может наблюдаться бурый и даже фиолетовый налет. Листья способны приобретать сизоватый оттенок во второй половине лета. Имеют очень короткие черешки фуксиново-пурпурной окраски. Характерной особенностью соцветий является их парное разветвление [19].

1.2. Ботаническое описание

Сирень является листопадным кустарником, но также может быть и небольшим деревцем. Серая кора покрывает стволы и побеги, также, как и неко-

торое количество чечевичек. Недоразвитая почка верхушечной части и несколько яйцевидных почек с наружными бурыми чешуями [3, 22, 27, 71] (Рис.1).

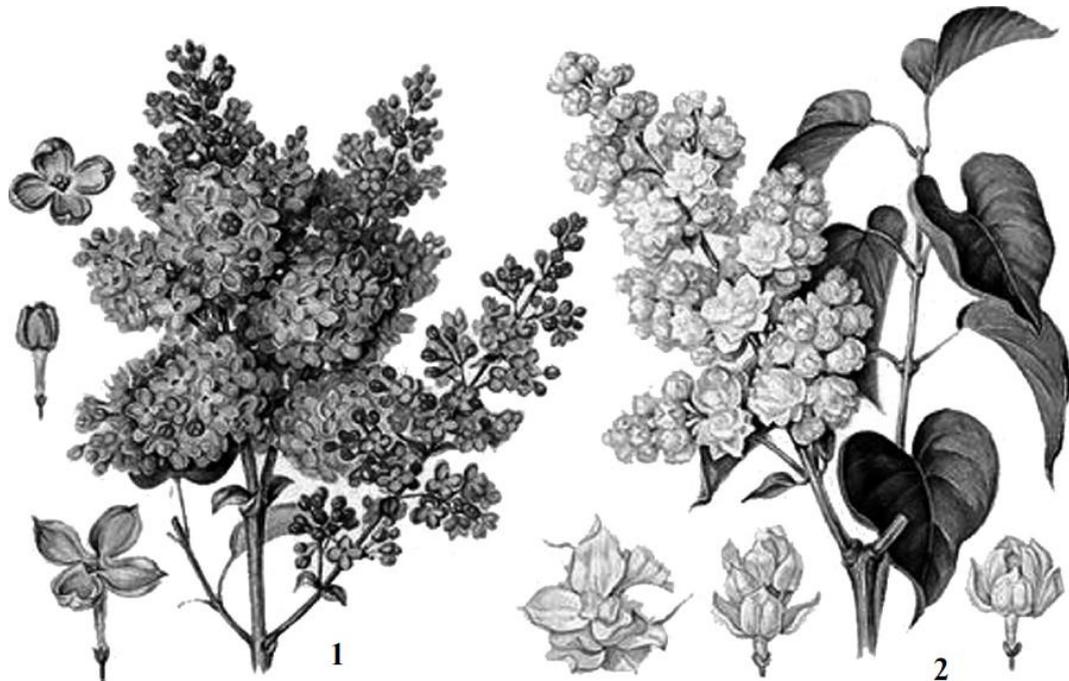


Рисунок 1 – Строение побегов сирени обыкновенной:

1 – форма сизая, 2 - форма белая

Листья расположены супротивно. По строению своему они простые, цельные, но иногда встречаются и надрезанные, крайне редко можно заметить перисто-рассеченные. Обычно они цельнокрайние, черешковые, изредка сидячие. Могут быть овальными или ланцетными. Кончики у них бывают более или менее заострённые [3, 28, 60, 88].

Метельчатые соцветия располагаются по бокам или, реже, на концах вершин прошлых побегов, крайне редко возникая на приростах-первогодках. Сильно варьировать может и форма соцветий.

Обоеполые цветки могут различаться по окраске. Встречаются как белые, так и фиолетовые и даже пурпурные. Обычно обладают сильным запахом. Чашечки цветков небольшие, колокольчатого строения, с четырьмя зубцами, не опадающие; венчик имеет воронковидную форму, со значительно превышающей по длине чашечку узкой трубкой и четырьмя отгибающимися лепестками. Две тычинки, прирашие к трубке венчика чуть ниже зева, но редко могут и

выступать над венчиком. Столбик имеет нитевидную форму, он заключён в структуру трубки венчика, рыльце двураздельное [3, 22, 28, 60, 88].

Цветки представлены простыми и махровыми вариациями. У махровых сортов сирени обыкновенной 2-3-4 венчика, которые вставляются друг внутри друга. Густомахровые сорта не содержат тычинки в цветке, они превращены в дополнительные лепестки; деформированные столбик и рыльце [3, 8, 60, 86].

Продолговатая, кожистая, двугнездная коробочка представляет плод данного растения. У нее один или два крылатых семени в каждом из гнезд, в процессе созревания имеющих тенденцию растрескиваться на две равные створки [3, 28, 60, 88].

Сирени довольно сильно различаются по возрасту вступления в фенологическую фазу. Период жизнедеятельности сирени. амурской и сирени. обыкновенной - около 100 лет. Сирень венгерская живет чуть меньше - около 80 лет, а о продолжительности жизни других видов информации не найдено, что позволяет сделать выводы, что она научно не исследовалась [22, 79, 80, 82]. Составляет примерно 100 лет и период жизнедеятельности некоторых корнесобственных сортов вида сирень обыкновенная [8, 59].

Способы размножения сиреней крайне разнообразны. Из наиболее применимых при культивировании – использование отводков, корневых отпрысков (порослью), прививок и черенкования (одревесневшими, зелёными, корневыми) [8, 22, 70, 87, 116].

Научный интерес вызывает **сирень мелколистная** – представитель низкорослых кустарников, высотой не более полутора метров. С возрастом склонна разрастаться в ширину. Листья мелкие, опушенные. Цветки источают приятный аромат, но, по сравнению с цветками представителей других видов, мелкие и воронковидной формы. Зацветает позже сирени обыкновенной. Интерес вызывает огромный выход биомассы листьев и цветков. Небольшая высота побегов значительно облегчает сбор сырья и не требует сложных технических манипуляций [59].

Особого внимания заслуживает вопрос рассмотрения гибридных форм сирени, имеющих ярко выраженные отличия во внешнем виде и строении от сирени обыкновенной.

Сирень китайская (*Syringa × chinensis* Willd.) – естественный гибрид сирени обыкновенной и сирени персидской. Ключевой особенностью, отличающей ее от остальных видов, является надрезная форма листьев. Высотой кусты достигают 6 м. Крайне обильно разрастается, образуя заросли. На одном цветоносе несет множество ажурных соцветий (до 500 соцветий на 1 кусте). Оттенки цветков могут быть как свойственные белым, так и сизым формам. Гибрид довольно требователен к почвам, при условии столь обильного цветения, крайне редко плодоносит, подвержен заморозам. Относится к раннецветущим [19, 22].

Сирень Генри (*Syringa × henryi* C.K.Schneid.). Данный вид получен в результате селекционного скрещивания сирени венгерской и сирени волосистой. Скрещиванием занимался французский селекционер профессор Генри. В южных районах дерево может достигать до 5 м высотой. Зимостойкий и засухоустойчивый вид. Со временем побеги из зеленоватых, покрытых пурпурным налетом переходят в желтые или желтовато-бурые. Листья крупные, и, в отличие от родственных видов, морщинистые. Интересной особенностью листьев являются жилки, имеющие розовато-пурпурный цвет. Соцветия плотные, крупные. Лепестки мелкие. Бутоны, фиолетово-пурпурного цвета, раскрываются медленно. Зацветает одновременно с сиренью венгерской [19, 22].

1.3. Культивирование

Наибольшее распространение в медицине и в народном хозяйстве разных стран мира получила сирень обыкновенная (*Syringa vulgaris* L.).

Сирень растет повсеместно в Европе и Азии.

Наиболее благоприятными для культивирования Сирени обыкновенной являются муссонный, континентальный и умеренно континентальный климат [8].

На данный момент в Международном регистре сирени (International Register and Checklist of Cultivar Names in the Genus *Syringa* L. (*Oleaceae*), 2003) зарегистрировано около 2000 сортов и форм сирени, а процесс попыток создания новейших сортов не прекращается.

Интродукция и развивающаяся селекция рода *Syringa* L. в последние годы, изучение её биологических особенностей, а также декоративных качеств сосредотачиваются, в основном, на территории ботанических садов и некоторых НИИ, где собираются огромные коллекции из многочисленных видов и самых редких сортов сирени, например в ГБС РАН (г. Москва), на ЦБС АН республики Белоруссии (г. Минск), на украинской ЦРБС АН (г. Киев), и др. [8, 18, 60, 61, 64, 69, 71].

Иностранные ученые так же проводят научно-исследовательскую работу с сиренью. Изучение проводится в США, Соединенном Королевстве Великобритании, на территории Канады, в странах Европы, таких как Франция, Германия, Польша [99, 101, 112, 113, 116, 117, 121], а в последние годы изучением сирени заинтересовались ученые из Китая [96, 121].

При выборе месторасположения посадки сирени нужно учитывать, что должно быть в достаточной степени освещенным, а также недоступным для сильного ветра. Непригодными являются и низкие, склонные к заболачиванию и подверженные затоплению осенью или ранней весной локации. Отмирание молодых корней может спровоцировать даже незначительный и недолгий застой воды.

Оптимально почва для высадки сирени должна умеренно увлажняться, быть плодородной, дренироваться, немаловажно большое содержание в ней гумуса. Сирени предпочитают расти на слабокислых или же нейтральных почвах, желательно низкое стояние грунтовых вод [69, 92].

Высадку сирени лучше всего осуществлять во второй половине июля и до сентября. При попытках произвести высадку весной или осенью, кусты могут хуже приживаться и дают крайне маленький прирост в первые годы жизни. Нужно соблюдать дальность при посадке - 2 - 3 м друг от друга (зависит от вида или сорта). Посадочные ямы принято копать предпочтительно с отвесными стенками. В состав посадочного субстрата лучше всего включить перегной или компост, древесную золу, можно добавить немного суперфосфата.

Важно держать кислотность почвы в интервале 6,6 — 7,5. Сажать лучше во время дождя или в вечернее время. Очень важно здоровье и достаточное разветвление корневой системы. Крону необходимо укоротить и немного обрезать те корни, у которых есть повреждения [59, 69, 80, 92].

Уход после посадки заключается в обильном поливе почвы вокруг стволов и мульчировании опавшими листьями, торфом или даже перегноем. Почва должна быть разрыхленной на глубину не более 4-7 см.

Дикорастущие виды сиреней могут размножаться семенами. Посев лучше всего проводить осенью или же весной. Сортовую сирень лучше размножать отводками, черенками или прививкой [92].

1.4. Сбор и заготовка

Кору сирени обыкновенной заготавливают во время периода сокодвижения до распускания листьев, а именно в апреле или начале мая. Это время является оптимальным для сбора, так как кора довольно легко отходит от ствола. Обычно заготовку коры проводят во время вырубki плантаций сирени. Последовательность заготовки: на гладких стволах и ветках ножом делают кольцевые надрезы на расстоянии 20-30 см, которые соединяются одним-двумя продольными надрезами, затем концом ножа или заточенной деревянной лопаточкой отделяются желобовидные кусочки. Кору нужно очистить от лишайников. Запрещено соскабливать части коры ножиком. При таком способе, а также в случае позднего сбора, на внутренней стороне коры могут остаться части дре-

весины. Примеси, слишком толстые куски коры необходимо удалить до начала сушки.

При заготовке сырья лучше собирать в фазы бутонизации и цветения, в виде полностью созревших и сформировавшихся листьев. Их осторожно обрывают вручную с черешком.

Цветовые соцветия целесообразно собирать с самого начала цветения и до наступления фазы полного цветения, увядающие цветки и соцветия являются не качественным сырьем. Соцветия срезают ножницами, веткорезами, секаторами (боярышник, липа). Необходимо удалить все пораженные части растения, ветки, засохшие цветки [44].

1.5. Применение сирени в медицине и отраслях народного хозяйства

Применение сирени в фармации на сегодняшний день обуславливает большое содержание в ее коре фенилпропаноида сирингина. Сирингин зарегистрирован как государственный стандартный образец (ГСО) (ВФС 42-2088-92). Регистрация «Настойки сирени» и «сиропа сирени» подтверждена патентами Российской Федерации [24].

Применение сирени в народной медицине обусловлено фармакологическими эффектами, которые способны проявлять различные ее сырьевые части: это и чай, изготовленный из цветков сирени, используемый как мочегонное, ветрогонное, противомаларийное средство при заболеваниях почек, и мазь из цветков сирени обыкновенной для втираний при ревматизме. В нанайской народной медицине настойка коры сирени применяется как тонизирующее средство [8, 23].

В болгарской народной медицине горячий настой листьев и цветков сирени принимают для нормализации менструального цикла.

В народном хозяйстве применяется для озеленения парков, садов и частных территорий. Выведено множество декоративных сортов сирени обыкновенной и сирени венгерской [22, 79].

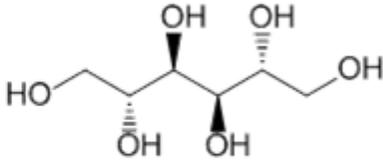
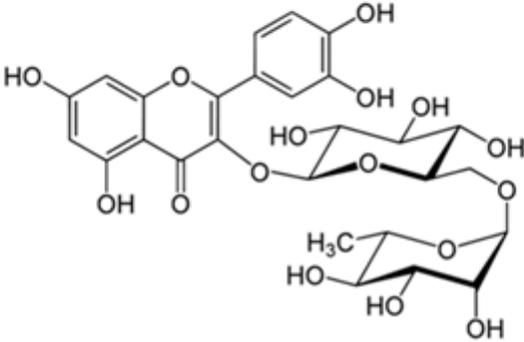
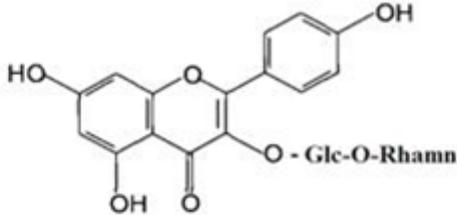
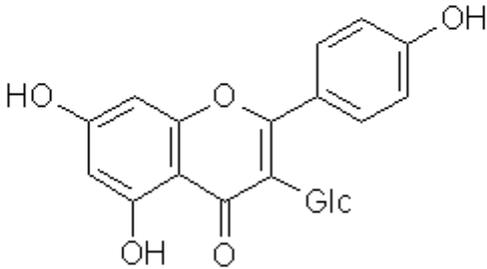
Содержащееся в цветках и побегах с листьями эфирное масло придает растению характерный аромат, что позволяет использовать его в парфюмерии. Известно, что в цветках сирени содержится в 3-4 раза больше эфирного масла, чем в цветках розы, а стоимость оценивается в 1,5 раза выше. Однако, в последнее время все чаще используются синтетические аналоги эфирного масла сирени – их запах более постоянен, в отличие от натурального, запах которого может существенно отличаться даже в рамках одного вида [75].

1.6. Химический состав и стандартизация коры, листьев и цветков сирени обыкновенной

Множество ученых России и других стран мира занимались изучением химического состава сирени [50, 93, 98, 106, 112, 120]. Основными базами для изучения сиреней в России стали СамГМУ и ВИЛАР (Г. Москва), где учеными ведутся исследования на протяжении тридцати лет [31, 32, 33, 35]. При этом колоссальные исследования были посвящены изучению различных морфологических частей растения и оценки их перспективности для применения в медицине и фармации.

Ранее из листьев сирени обыкновенной были выделены флавоноиды, такие как рутин, никотифлорин, астрагалин и др. Кроме флавоноидов были также выделены иридоидные гликозиды, представленные синрингопикрозидом, сиренгеноном и др. [45, 49, 99], и небольшое количество фенилпропаноидов, наиболее ярким представителем которых является синрингин [57, 112] (табл. 1).

Таблица 1 - Химический состав листьев сирени обыкновенной *Syringa vulgaris* L

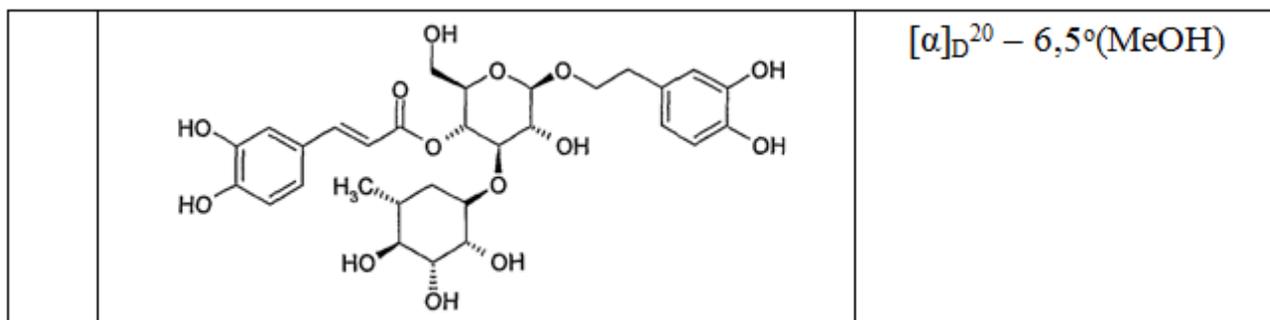
№ п.п.	Название / структурная формула	Физико-химические константы
1.	<p>Маннит (1)</p> 	<p>$C_6H_{14}O_6$ $T_{пл.} 166-168^{\circ}C$</p>
2.	<p>Рутин (2)</p> 	<p>$C_{27}H_{30}O_{16}$ $T_{пл.} 236-238^{\circ}C$ λ_{max} (EtOH), 258, 266 нм, 362</p>
3.	<p>Никотифлорин (3)</p> 	<p>$C_{27}H_{30}O_{15}$ $T_{пл.} 236-238^{\circ}C$ λ_{max} (EtOH), 268, 355</p>
4.	<p>Астрагалин (4)</p> 	<p>$C_{22}H_{20}O_{11}$ $T_{пл.} 236-238^{\circ}C$ λ_{max} (MeOH), 267, 355 нм.</p>
5.	<p>Кверцетин (5)</p>	<p>$C_{15}H_{10}O_7$ $T_{пл.} 236-238^{\circ}C$ λ_{max} (MeOH), 257, 268 нм, 375</p>

6.	<p>Изокверцитрин (6)</p>	<p>$C_{21}H_{20}O_{12}$ $T_{пл.} 236-238^{\circ}C$ $\lambda_{max} (MeOH), 257, 268 \text{ нм}, 363$</p>
7.	<p>Сирингин (7)</p>	<p>$C_{17}H_{24}O_9$ $T_{пл.} 190-192^{\circ}C \text{ (вода)}$ $\lambda_{max} (MeOH), 222, 266 \text{ нм}$.</p>

Салидрозид и его производные актеозид, неоактеозид и другие фенилпаноиды удалось выделить из соцветий сирени обыкновенной [98, 104], а также из них были выделены рутин и никотинфлорин [117] (табл. 2).

Таблица 2 - Химический состав соцветий сирени обыкновенной *Syringa vulgaris* L

№ п.п	Название / структурная формула	Физико-химические константы
1	<p>Салидрозид (8)</p>	<p>$C_{14}H_{20}O_7$ $T_{пл.} 160-162^{\circ}C$ $[\alpha]_D^{20} - 32^{\circ} (MeOH)$ $\lambda_{max} (MeOH), 224, 279 \text{ нм}$.</p>
2	<p>Актеозид (9)</p>	<p>$C_{23}H_{36}O_{15}$</p>



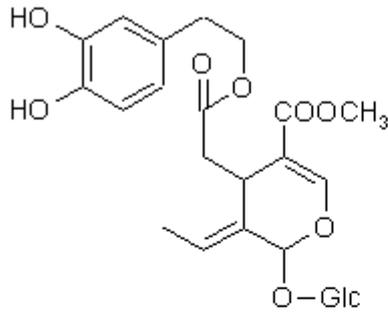
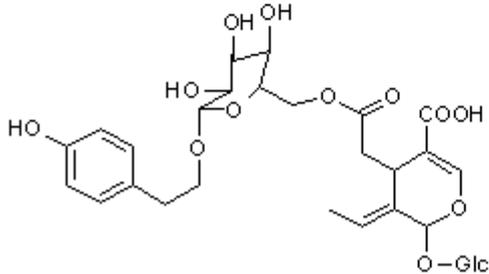
Ученые, изучавшие суспензионную культуру листьев сирени обыкновенной, получили данные о накоплении в биомассе до 16 % актеозид и салидрозид [97] (Табл. 2).

В коре сирени обыкновенной обнаруживаются такие соединения как синрингин, олеуропеин, кониферин и лигустрозид [99,104]. Удалось выделить также фенольные соединения тирозол, гидрокситирозол и их гликозиды салидрозид и гидроксисалидрозид, кумарин эскулитин; фенолпропаноиды - актеозид, форзитиазид, синрингин, кониферин; иридоидные гликозиды - олеуропеин, норолеуропеин, лигустрозид, нюценид; и лигнаны - 4-О-глюкозид (+)-ларицирезинола [35, 43, 45, 48, 59] (Табл. 3).

Таблица 3 - Химический состав коры сирени обыкновенной *Syringa vulgaris* L

№ п.п.	Название / структурная формула	Физико-химические константы
1	Кониферин (18) 	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_8$ $T_{\text{пл.}} 184-185^\circ\text{C}$ $[\alpha]_D^{20} - 60^\circ(\text{MeOH})$ $\lambda_{\text{max}} (\text{MeOH}), 258, 266 \text{ нм.}$
2	Форзитиазид (19) 	$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$ $[\alpha]_D^{20} - 18^\circ(\text{MeOH})$ $\lambda_{\text{max}} (\text{MeOH}), 285, 330 \text{ нм.}$

3	<p>Эскулетин (20)</p>	<p>$C_9H_6O_4$ $T_{пл.}$ 248-249°C (вода). λ_{max} (MeOH), 230, 260, 300, 352 нм.</p>
4	<p>Тирозол (21)</p>	<p>$C_8H_{10}O_2$ $T_{пл.}$ 91-92°C (вода). λ_{max} (MeOH), 224, 278 нм.</p>
5	<p>Гидрокситирозол (22)</p>	<p>$C_8H_{10}O_3$ $T_{пл.}$ 81-83°C (вода). λ_{max} (MeOH), 224, 278 нм.</p>
6	<p>Гидроксисалидрозид (23)</p>	<p>$C_{14}H_{20}O_8$ $[\alpha]_D^{20} - 31^\circ$ (MeOH) λ_{max} (MeOH), 224, 279 нм.</p>
8	<p>Олеуропеин (24)</p>	<p>$C_{25}H_{32}O_{13}$ $[\alpha]_D^{20} - 165^\circ$ (MeOH) λ_{max} (MeOH), 232, 282 нм.</p>
9	<p>Дезметилолеуропеин (25)</p>	<p>$C_{24}H_{30}O_{13}$ $T_{пл.}$ 145-147°C $[\alpha]_D^{20} - 157^\circ$ (MeOH) λ_{max} (MeOH), 232, 282 нм.</p>
10	<p>Лигустрозид (26)</p>	<p>$C_{25}H_{32}O_{12}$ $[\alpha]_D^{20} - 175^\circ$ (MeOH)</p>

		λ_{\max} (MeOH), 227, 278 нм.
11	Нюценид (27) 	$C_{31}H_{44}O_{17}$ $[\alpha]_D^{20} - 150^\circ(\text{MeOH})$ λ_{\max} (MeOH), 227, 278 нм.

Содержанием сирингина в коре является показателем качества для данного вида сырья, нижний предел которого регламентируется ВФС 42-2106-92 «Сирени обыкновенной кора» и не должен быть ниже 2%.

Вопросы качественного анализа сырья при проведении стандартизации предлагается решать методом тонкослойной хроматографии (в УФ-свете с проведение детекции с длиной волны 254 нм) с использованием ГСО сирингина. Также представлен метод спектрофотометрии [24].

Более высокой чувствительностью и селективностью по отношению к веществам коры сирени обыкновенной имеют более препаративные методы анализа, в том числе ВЭЖХ.

Были проведены сравнительные исследования коры таких видов сирени, как обыкновенная и венгерская [33]. Результаты сравнения показали недостаточное содержание сирингина в коре сирени венгерской, которое было в половину меньше, чем таковое в коре сирени обыкновенной. В качестве доминирующего компонента в коре сирени венгерской проявляет себя олеуропеин, вместо сирингина, свойственного коре сирени обыкновенной. Ряд отличий продолжился более высоким содержанием норолеуропеина и значительно мень-

шим форзитиазида в коре сирени венгерской, что показывает ее непригодность для применения сырья наряду с сырьем сирени обыкновенной [43].

1.7. Фармакологические свойства биологически активных соединений сирени

Различные морфологические единицы сирени содержат различные БАС, которые обуславливают их фармакологические свойства.

Ведущей группой БАС коры сирени обыкновенной являются фенилпропаноиды [45,50]. Основной компонент коры сирени обыкновенной – сирингин обуславливает ее иммуномодулирующее и тонизирующее действие. Салидрозид, так же являющийся компонентом коры, предполагает тонизирующий спектр действия для препаратов коры сирени обыкновенной. Выраженные иммуномодулирующие свойства обусловлены наличием в составе сирингина и сирингарезинола [33, 44]. Противоопухолевые свойства обусловлены наличием другого лигнана – ларицирезинола. Кумарины придают капилляроукрепляющую активность. Тирозол и гидрокситирозол оказывают антиоксидантное действие. Олеуропеин и его гликозиды помогают снижать артериальное давление и выводить холестерин из сосудов [6, 12, 18, 35].

Ведущей группой БАС в листьях сирени обыкновенной являются флавоноиды. Они обуславливают наличие таких видов активности, как капилляроукрепляющий (рутин, изокверцитрин), спазмолитический (рутин, изокверцитрин). Сильное диуретическое действие будет обусловлено сочетанием таких компонентов, как маннит и рутин [33, 50, 57].

Ведущей группой БАС в цветках сирени обыкновенной являются фенилпропаноиды. Адаптогенное, иммуномодулирующее, тонизирующее действие присуще веществам - салидрозиду и сирингину [24].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. Исследование позволило выявить, что сырье сирени обыкновенной не описано ни в одной статье современной ГФ РФ XIV издания. Но учитывая ре-

зультаты исследований различных органов сирени обыкновенной, а также представителей других видов рода сирень (*Syringa* L.), можно сделать вывод о перспективности и их большом научном интересе.

2. Род Сирень на сегодняшний день насчитывает около 30 видов. Культивирование почти всех видов широко распространено в средней полосе России. Мы считаем, что наиболее перспективными являются следующие виды: сирень обыкновенная, сирень венгерская, сирень мелколистная и сирень Звегинцева.

3. Исследования химического состава коры сирени обыкновенной показывают существенное присутствие таких соединений, как: фенилпропаноиды синрингин актеозид, форзитиазид, кониферин, лигнаны (4-О-глюкозид (+)), ларицирезинола, кумарин эскулетин тирозол, гидрокситирозол и их гликозиды салидрозид и гидроксисалидрозид; иридоидные гликозиды олеуропеин, норолеуропеин, лигустрозид, нюценид.

4. В свою очередь исследования по установлению химического состава листьев сирени обыкновенной характеризуются присутствием маннита, флавоноидов, в том числе рутина, никотифлорина, астрагалина, изокверцитина; иридоидных гликозидов, включающих синрингопикрозид, сиренгенон, синрингоксид, неулоропеин, изоолеуропеин, изолигустрозид, а также фенилпропаноидов, к которым относятся синрингин и лигнановые гликозиды – 4-О-глюкозид оливила.

5. При разборе химического состава цветков сирени обыкновенной было установлено наличие салидрозида и его производных - актеозида, неоактеозида и других фенилпропаноидов, а также рутина и никотифлорина.

6. На данный момент зарегистрированы: лекарственное растительное сырьё: «Кора сирени обыкновенной» (ВФС 42-2106-92); лекарственные препараты: настойка сирени и сироп сирени - из коры сирени обыкновенной.

7. Имеется опыт применения чая из цветков сирени обыкновенной как мочегонного, ветрогонного, противомаларийного средство при заболеваниях почек, мазь из цветков сирени обыкновенной применяется для втираний при ревматизме. В нанайской народной медицине настойка коры сирени применяется как тонизирующее средство. В болгарской народной медицине горячий на-

стой листьев и цветков сирени принимают для нормализации менструального цикла.

8. Таким образом, при условии установленного фитохимического состава листьев сирени обыкновенной, а также их многолетнего использования в народной медицине, листья сирени обыкновенной так и не были зарегистрированы как официальное перспективное лекарственное растительное сырьё.

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ И ОБЪЕКТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ИССЛЕДОВАНИИ

2.1. Объекты исследования

Объекты исследования: кора, цветки и листья *Syringa vulgaris* L., *Syringa josickaea* Jacq., *Syringa reticulate subsp. amurensis* (Rupr.) P.S. Green & M.C. Chang, *Syringa pubescens subsp. microphylla* (Diels) M.C. Chang & X.L. Chen, *Syringa tomentella subsp. sweginzowii* (Koehne & Lingelsh.) Jin Y. Chen & D.Y. Hong, *Syringa* x *henryi* C.K.Schneid., *Syringa villosa* Vahl, *Syringa meyeri* C.K.Schneid собранные в период с 2015 по 2021 гг. Заготавливалось исходное сырье сирени на территориях Самарской и Саратовской областей и в Республике Казахстан в период с мая по октябрь.

Были использованы листья следующих видов:

- Сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) ;
- Сирени венгерской (*Syringa josickaea* Jacq.);
- Сирени амурской (*Syringa reticulate subsp. amurensis* (Rupr.) P.S. Green & M.C. Chang);
- Сирени мелколистной (*Syringa pubescens subsp. microphylla* (Diels) M.C. Chang & X.L. Chen);
- Сирени волосистой (*Syringa villosa* Vahl);
- Сирени Генри (*Syringa* x *henryi* C.K.Schneid.);
- Сирени Звегинцева (*Syringa tomentella subsp. sweginzowii* (Koehne & Lingelsh.) Jin Y. Chen & D.Y. Hong).

Использовались цветки следующих видов и сортов:

- Сирени обыкновенной (форма сизая) (*Syringa vulgaris* L.);
- Сирени обыкновенной (форма белая);
- Сирени обыкновенной (сорт Эдмон Буансье);
- Сирени обыкновенной (сорт Антуан Бюхнер);
- Сирени обыкновенной (сорт Анна Шпет);

- Сирени обыкновенной (сорт Леон Гамбетта);
- Сирени обыкновенной (сорт Шарль Жолли);
- Сирени обыкновенной (сорт Красавица Москвы);
- Сирени Генри (*Syringa x henryi* C.K.Schneid.);
- Сирени Мейера (*Syringa meyeri* C.K.Schneid);
- Сирени волосистой (*Syringa villosa* Vahl).

Также исследовалась кора сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) и сирени мелколистной (*Syringa pubescens subsp. microphylla* (Diels) M.C. Chang & X.L. Chen).

Исследованные лекарственные препараты и фармацевтические субстанции:

- Настойка листьев, настойка цветков и настойка коры сирени обыкновенной 1:5 (40% этиловый спирт).
- Настойка листьев и настойка цветков сирени обыкновенной 1:5 (70% этиловый спирт).
- Густой экстракт листьев сирени обыкновенной, густой экстракт цветков сирени обыкновенной, густой экстракт коры сирени обыкновенной.
- Сухой экстракт листьев сирени обыкновенной.
- Стандартные образцы: сирингин, салидрозид, хлоргеновая кислота, рутин.
- Индивидуальные вещества: маннит, актеозид, сирингин, салидрозид, рутин.

Используемое в диссертационной работе оборудование представлено в таблице 4.

Таблица 4 – оборудование, используемое в диссертационной работе

№ п/п	Вид прибора	Модель	Марка	Страна производитель
1.	Электронные весы	ЛВ 210-А	Сартогосм	Россия
2.	Аналитические весы	XS 204	Mettler Toledo	Швейцария

3.	Спектрофотометр	Specord 40	Analytic Jena	Германия
4.	Цифровой микроскоп	DM-111	Motic	Китай
5.	Спектрометр (300 МГц для ^1H -ЯМР спектроскопии)	AM-300	Bruker	США
6.	Спектрометр (126,76 МГц для ^{13}C -ЯМР спектроскопии)	DRX-500	Bruker	США
7.	Прибор для регистрации масс-спектров высокого разрешения (метод электрораспылительной ионизации (ESI))	micrOTOF II	Bruker	США
8.	масс-спектрометр	MS-30	Kratos	Япония
9.	Сита (отверстия 1 мм; 2 мм; 3мм; 5мм)		Химприбор	Россия
10.	Лупа (x10)	ZB-7790-12	Kromatech	Россия

2.2. Методы исследования

В работе применялись следующие современные методы исследования: морфолого-анатомический анализ лекарственного растительного сырья, ТСХ-анализ и УФ-спектроскопия. Также были проведены химические и физико-химические исследования и доклинические исследования на животных.

2.2.1. Методики, используемые при проведении анатомо-морфологического анализа

В диссертационной работе проводились исследования высушенных специальным образом листьев, цветков и коры сирени обыкновенной и сирени

венгерской. Высушивание проводилось естественным путем. Пробоподготовка микропрепаратов осуществлялась в соответствии с требованиями ГФ РФ (XIV издание) [14,15,16,17]. В смеси веществ глицерина очищенного-этанола-воды в подходящем соотношении 1:1:1 фиксировались свежесобранные части сырья для проведения микроскопического анализа. На основании ГФ РФ XIV издания проводился анатомо-морфологический анализ в соответствии с требованиями ОФС «Листья» в [14,15,16,17].

Рассмотрение объектов лекарственного растительного сырья осуществлялось невооруженным глазом и при помощи лупы (x10). При помощи программного обеспечения цифрового микроскопа были установлены размеры изучаемых объектов. Органолептическими методами были установлены цвет, вкус и запах сырья и извлечений из него. В проходящем свете был произведен микроскопический анализ на белом поле с использованием микроскопа фирмы Motic модели DM-111.

2.2.2. Методы анализа с использованием химических реакций

Кроме использования современных физико-химических методов анализа, немаловажная роль отводится пробирочным реакциям, являющимся составной частью фармакогностического исследования лекарственного растительного сырья. Несмотря на меньшую точность и селективность, их можно провести без длительной пробоподготовки и высокой квалификации исследователя.

Качественные реакции.

Пробирочные реакции, проведенные с целью подтверждения ранее установленного химического состава исследуемых образцов сырья, а точнее определенных групп БАВ в них, результаты представлены в таблице 5 [28,44].

Таблица 5 – качественные реакции

№ п/п	Название реакции	Методика проведения	Аналитический эффект
1.	Реакция с раство-	Смешиваем 2 мл водно-	Желтый цвет раствора,

	ром алюминия (III) хлорида	спиртового экстракта (извлечения) листьев сирени, и 2 мл 3% спиртового раствора $AlCl_3$.	желтовато-зеленое свечение при длине волны 366 нм демонстрируют наличие флавоноидов в растворе.
2.	Реакция с щелочным раствором диазобензолсульфо кислоты	К 2 мл извлечения прибавляется 2-3 капли свежеприготовленного раствора диазобензолсульфо кислоты (ДСК).	При присутствии свободных ароматических ОН-групп появляется характерное желто-оранжевое окрашивание
3.	Реакция с раствором железа (III) хлорида	К 2 мл извлечения прибавляется 2 мл 1% спиртового раствора $FeCl_3$.	Коричневая окраска раствора спирта демонстрирует наличие свободной ОН-группы в положении 3. Зеленая окраска демонстрирует наличие свободной ОН-группы в положении 5.
4.	Цианидиновая реакция (проба Shinoda)	Смешиваем водно-спиртовое извлечение из листьев сирени обыкновенной и металлический цинк в среде концентрированной соляной кислоты.	Малиново-красное окрашивание после реакции демонстрирует присутствие в листьях сирени обыкновенной флавоноидов
5.	Цианидиновая реакция с модификацией по Брианту	Проходит в среде н-бутанола. Служит продолжением вышеописанной реакции	Появляется постепенный переход краснофиолетового окрашивания в органический слой

			н-бутанола в смеси с водой очищенной 1:1, при присутствии в растворе агликонов, а если в растворе присутствуют гликозиды, то окрашивается нижний неорганический слой
6.	Реакция Вильсона (борно-лимонная)	К 2 мл извлечения прибавляется пара капель борной и лимонной кислоты.	Окрашивание раствора в желтый цвет с зелено-желтым свечением цвет связано с образованием батохромного комплекса, и свидетельствует об обнаружении 3- и 5-гидроксифлавонов и гидроксифлавонолов, а при факте наличия свободной ароматической группы в 3 положении наблюдается также образование пятичленного комплекса, который имеет устойчивость в растворе лимонной кислоты.
7.	Реакция с едкими щелочами (KOH, NaOH)	К 2 мл извлечения из листьев сирени прибавляется 2 мл раствора щелочи.	Щелочной гидролиз испытуемого раствора проявляется в виде появления оранжевого окраши-

			вания испытуемого раствора.
--	--	--	-----------------------------

2.2.3. Анализ с применением хроматографических методов

Для изучения химического состава водно-спиртовых из листьев, цветков, коры и почек некоторых видов сиреней применялся метод *тонкослойной хроматографии* [14,50,64,89].

В исследовании применяли комплекс растворителей, оптимально подходящий для разделения гликозидных соединений: хлороформ – этанол(96%) – вода (26:16:3).

Для улучшения качества хроматографирования камеру необходимо насыщать комплексом растворителей в течение суток (24 часа). В качестве носителя применялись хроматографические пластинки марки «Sorbfil» некоторых типов, подходящие для ультрафиолетовой детекции.

В термостате при температуре 95-105°C проводится удаление влаги из сорбента. Далее на заранее намеченную стартовую линию (точка 0) производится капиллярное нанесение образцов, которые закрепляются спиртом этиловым (концентрация 96%). Далее пластинка с образцами отправляется в хроматографическую камеру. Хроматографирование проводилось восходящим способом (комнатная температура). Хроматографирование завершается по достижению фронтом растворителя расстояния в 7-8 см. Пластинки извлекаются из системы и просматриваются при дневном освещении. Так же для просмотра используется ультрафиолетовое излучение с настройками длин волн 254 и 366 нм.

Для обнаружения фенольных соединений делается обработка пластин специальным реактивом - щелочным раствором ДСК сразу после приготовления.

Для обнаружения флавоноидов делается обработка пластин специальным реактивом - спиртовым раствором $AlCl_3$ (концентрация 3 %).

Адсорбционная жидкостная колоночная хроматография [43,79].

Адсорбционная жидкостная колоночная хроматография использовалась для более детального и глубоко изучения химического состава цветков сирени обыкновенной, а также коры и листьев сирени мелколистной. Во время экспериментов использовалась колонка с диаметром 6 сантиметров. Была задана высота сорбентного слоя, равная шесть сантиметров. В качестве сорбентов использовались чешские силикагели L 40\100 микрометров и L 100\250 микрометров. Вымывания искомого вещества растворителем (элюирование) проводилось элюентами:

- вода очищенная;
- растворы хлороформа и этилового спирта 96% в различных пропорциях.

Таким образом удалось получить индивидуальные БАВ, которые фракционированием выделялись из изучаемых видов сырья. Некоторые полученные таким образом фракции нуждались в перекристаллизации или даже в проведении более тонкого очищения на базе микроколоночной методики, в которой для колоночной хроматографии применяется полиамид (Woelm Pharma).

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [4, 14, 44, 50]. Образцы сырья коры сирени обыкновенной и экспериментальные препараты на ее основе были исследованы с помощью жидкостного хроматографа Милихром-6 (Научприбор). Детекция проводилась в ультрафиолетовом световом спектре в изократическом режиме методом обращенно-фазовой хроматографии с использованием стальной колонки КАХ-6-80-4 (размер 2; параметры 2 мм/80 мм; сорбент Сепарон-С18 5 мкм).

Подвижная фаза определялась раствором ацетонитрила и уксусной кислоты (концентрация 1%) в воде при соотношении 15 к 85 (установлено эмпирическим методом). Определенная скорость выделения нужного нам вещества – 100 мкл/мин, объемом элюента - 1500 мкл.

ГЛАВА 3. МОРФОЛОГИЯ И АНАТОМИЯ ЛИСТЬЕВ СИРЕНИ

Обязательным условием установления подлинности сырья, а также его доброкачественности является подтверждение с использованием методов морфолого-анатомического исследования. Такой анализ позволяет отличить целевой вид ЛРС от примесного, выявить фальсификат. Для фармацевтического анализа особенно важно использование данного метода.

На данный момент ни один вид сырья сирени обыкновенной не вошел в Государственную фармакопею, но зарегистрирована кора сирени обыкновенной (ВФС 42-2106-92), как источник получения СО синрингина. Литературные данные указывают на применение также цветков и листьев в народной медицине [45, 49, 57, 77, 99]. Отечественные и зарубежные ученые заинтересованы в исследовании анатомии сирени, однако на данный момент нет описания гистологии и анатомии листьев какого-либо вида сирени.

Для разрешения вопросов комплексного использования лекарственного растения сирени обыкновенной необходимо внедрение в фармацевтическую и медицинскую практику листьев сирени обыкновенной.

Отсутствует документация на листья сирени как в Российских источниках, так и в зарубежных. Возникает задача по выявлению диагностических признаков листьев сирени обыкновенной, которые войдут в раздел «Микроскопические признаки» разрабатываемой нормативной документации.

Гистологические и анатомо-морфологические признаки листьев сирени растения рода Сирень представлены в данной главе.

3.1. Морфологическое и анатомическое сравнение листьев сирени обыкновенной и сирени венгерской

Комплексное использование лекарственных растений позволяет проводить безотходное производство лекарственных препаратов, что может впоследствии принести как экологическую, так и экономическую выгоду. Как и кора сирени обыкновенной, листья сирени должны стать в последствие очень вос-

требуемым и эффективным видом лекарственного растительного сырья и могут стать целевым видом.

Особенности сирени венгерской заключаются в том, что она является примесным видом. В связи с чем возникает потребность в тщательном контроле качества целевого сырья на предмет ее присутствия. Так же из-за существенной толщины ее веток извлечение цветков и листьев требует особого подхода. Сами листья достаточно развиты, что дает выход сырья наиболее высокого качества.

3.1.1 Морфолого-анатомические особенности листьев сирени обыкновенной

Во многих определителях растений описаны морфологические особенности строения листьев сирени, они таксономически-значимы в процессе заготовки и последующей переработки цельного сырья. [3, 7, 62, 66, 77, 82, 83].

Сирень обыкновенная (*Syringa vulgaris* L) - древовидный кустарник до 8 м высоты. Листья супротивные яйцевидные, у основания сердцевидные или прямосрезанные, к вершине заостренные, цельнокрайние, голые, длиной от 5 до 12 см; черешок до 3 см длины (Рис. 2)[7].

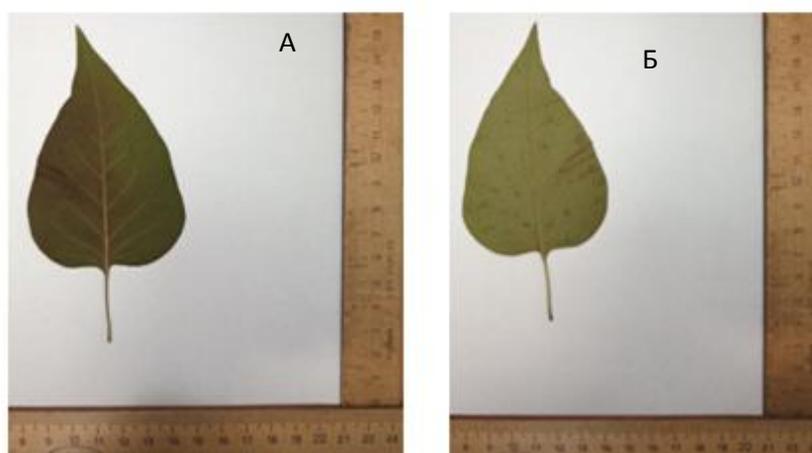


Рисунок 2 – Морфологическое строение листа сирени обыкновенной:

А – верхняя сторона листа; Б – нижняя сторона листа.

Лист сирени обыкновенной относится к дорзовентральному типу строения. Это подтвердил анализ поперечного сечения листа. Столбчатый и губчатый мезофиллы занимают примерно одинаковые части в общем объеме листо-

вой пластинки. В структуре мезофилла не обнаружено склереид и крайне редко встречаются друзы оксалата кальция (рис. 3 А).

На листьях встречаются железистые трихомы (железки), чаще на поверхности нижней стороны эпидермиса (рис. 3 А). Погруженность железок в мезофилл хорошо диагностируется при просмотре эпидермиса верхней и нижней поверхности листа. Они имеют грибовидную структуру. Она состоит из одноклеточной ножки и многоклеточной головки, включающей от шести до девяти клеток. Чаще всего головка восьмиклеточная, радиус головки составляет в среднем 37 мкм. Клетки головки сильно пигментированы бурым неструктурированным протопластом. Кутикулярный слой головки тонкий целлюлозный.

Эпидермальные клетки с верхней стороны листовой пластинки угловатые неправильной иногда прямоугольной или ромбической формы. Как правило клетки верхнего эпидермиса незначительно вытянуты, что более характерно для эпидермального слоя над жилками. Клеточные стенки целлюлозные без выраженных пор. Кутикулярный слой слабо заметен по жилкам в виде продольных морщин (рис. 3 Д).

С нижней стороны листовой пластинки клетки эпидермы неправильной формы с извилистым краем. Над жилкой они, как правило, вытянутые почти прямоугольные. Кутикулярный слой нижнего эпидермиса выражен сильнее. Кутикула продольно морщинистая. Она в области железок и устьичных аппаратов часто радиально морщинистого типа.

Лист с. обыкновенной гипостоматический. Устьичные аппараты, расположенные только с нижней стороны листовой пластинки встречаются часто и имеют анамоцитный тип строения (рис. 3 Б).

Центральная жилка листа с. обыкновенной на поперечном сечении имеет угловатое строение. Ширина её составляет в среднем около 667 нм, Высота на поперечном срезе – 550 нм. Борты центральной жилки почти ровные расположены под углом 90° к поверхности листовой пластинки.

С адаскиальной стороны жилка армирована значительным блоком угловой колленхимы, занимающей до 10 слоёв клеток, что составляет глубину

листа около 200 мкм. Клеточные стенки колленхимных клеток значительно утолщены к поверхности листовой пластинки. Во внутренних слоях колленхима неравномерно утолщенная, тонкостенная. Протопласты колленхимных клеток аморфные незначительно пигментированные.

Эпидермис верхней, адаксиальной стороны центральной жилки мелкоклеточный. Клетки эпидермиса на поперечном сечении прямоугольной формы. Клеточная стенка с периферии сильно утолщена и покрыта морщинистой кутикулой нативно желтого цвета (рис. 3 В).

С абаксиальной стороны центральной жилки колленхимный слой выражен слабо. Он занимает от трёх до четырёх слоёв клеток, что составляет в глубину листа около 83 мкм. Колленхима уголкового типа с изредка встречающимися, заметными межклетниками (рыхлая). Клеточных включений в колленхимных и паренхимных тканях центральной жилки не обнаружено.

Эпидермис абаксиальной стороны аналогичен по строению таковому с адаксиальной стороны, однако клетки крупнее.

Проводящая система центральной жилки оформлена в виде одного крупного С-образного пучка. Пучок закрытый, коллатерального типа. Объём колленхимы и флоэмы пучка примерно в равных значениях.

Пучок сильно пигментирован за счет мелкоклеточной флоэмной части, а также живых протопластов клеток сердцевинных лучей ксилемы. Со стороны флоэмной ткани склеренхима выражена слабо. Ее клетки положительно реагируют на лигнин (рис. 3 В). Они достаточно тонкостенные.

Жилки второго порядка на поперечном сечении имеют выраженную прямоугольную форму. Занимающая до 6 слоев некрупных клеток уголкового типа колленхима с адаксиальной стороны расположена прямоугольным блоком, который не заходит на отчетливо просматриваемую часть листовой пластинки. С абаксиальной стороны наблюдается двухклеточный слой колленхимы, как и соответствующее строение данной части центральной жилки.

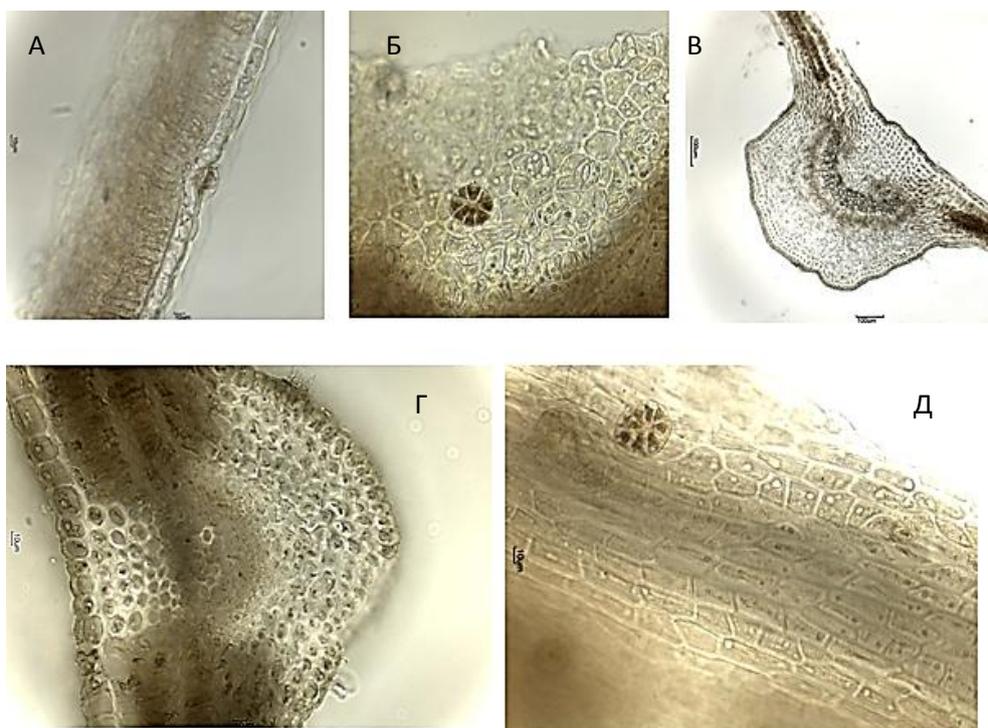


Рисунок 3 – Изображения анатомических особенностей листа сирени обыкновенной

А–срез поперечный (400X); Б –эпидермис нижний (400X); В-срез поперечный центральной жилки листа (100X); Г - срез поперечный жилки второго порядка листа (400X); Д –эпидермис верхний (400X).

Проводящая система вторичной жилки отличается от таковой у центральной жилки размерами (диаметр жилки около 270 мкм). Гистологические особенности сохраняются (рисунок 3 Г).

3.1.2. Морфолого-анатомические особенности листьев сирени венгерской

Сирень венгерская (*Syringa josikaea* Jacq) в своей жизненной форме представляет собой кустарник высотой до 4 м. Его листья имеют эллиптическую форму, реже удлинненно-яйцевидную, как правило, наблюдается плавный переход в востроконечные, сверху имеют темно-зеленый окрас, снизу приобладают сизоватые или бледнозеленые оттенки, визуальнo листья голые, цельнокрайние, с черешками длиной 1 — 1,5 см (Рис. 4) [7].

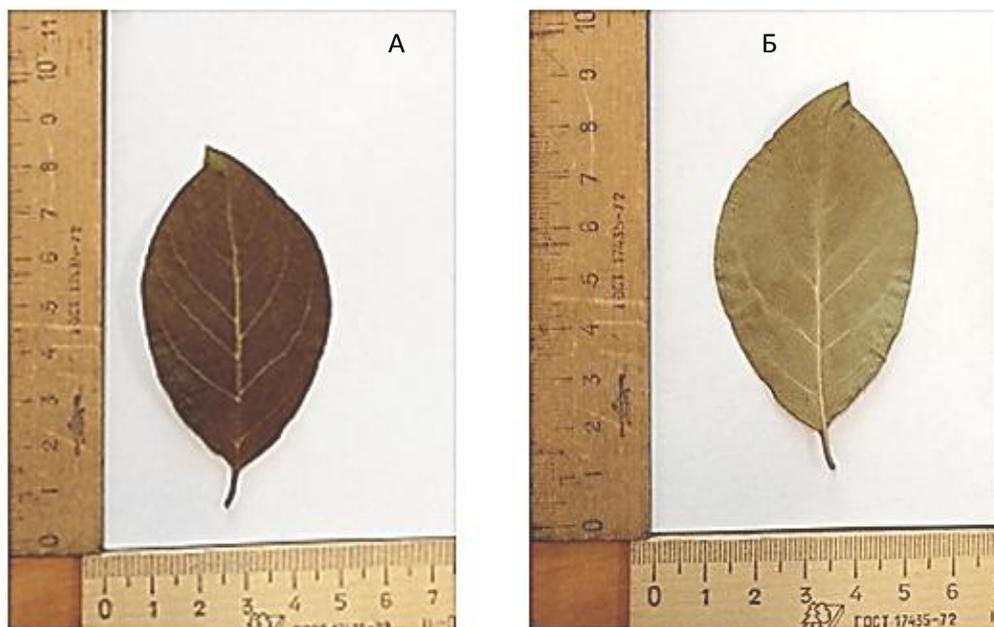


Рисунок 4 – Морфологическое строение листа сирени венгерской:

А – верхняя сторона листа; Б – нижняя сторона листа.

Анализ поперечного сечения листа сирени венгерской показал дорзовентральный тип его строения. При этом столбчатый мезофилл занимает значительно меньшую часть в толщине листовой пластинки (до 35%) и состоит из одного, реже двух рядов клеток. Губчатый мезофилл занимает большую часть объема листа (до 65%). При этом аналогично с. обыкновенной в структуре мезофилла не обнаружено склереид и друз оксалата кальция, что вероятно может быть связано с динамикой вегетации листьев и их временем сбора (рис. 5 А).

Эпидермис листа с верхней и нижней стороны морщинистый. Данная особенность связана с характерными для с. венгерской волнистыми или сосочковидными выступающими эпидермальными клетками. Данный признак особенно диагностичен в области разных жилок листа (рис. 5 А).

Жилки второго порядка на поперечном сечении имеют выраженную прямоугольную форму. Угловая колленхима с адаксиальной стороны, занимающая до пяти слоёв клеток, расположена прямоугольным блоком, не заходя на часть листовой пластинки. С абаксиальной стороны колленхимный слой до четырех слоёв клеток, аналогичен центральной жилке.

Проводящая система вторичной жилки отличается от центральных размеров. Гистологические особенности сохраняются (рис. 5 Б).

Центральная жилка листа с. венгерской на поперечном сечении в отличие от структур, характерных для жилки с. обыкновенной, имеет характерное почковидное очертание. Ширина центральной жилки составляет в среднем 1083 мкм, высота – 655 мкм, что на 93% выше, чем у с. обыкновенной.

Центральная жилка имеет почковидность очертаний. На нижней стороне листа жилка армирована значительным блоком уголкового колленхимы, занимающей до трех слоев, что составляет в глубину листа мкм 56 мкм. Клеточные стенки колленхимных клеток значительно утолщены к поверхности. Во внутренних слоях колленхима тонкостенная. Протопласты колленхимных клеток аморфные, незначительно пигментированные.

Эпидермис верхней абаксиальной стороны центральной жилки мелкоклеточный, морщинистый за счет выпирающих клеток неправильной формы. Клеточная стенка с периферии сильно утолщена и покрыта кутикулой нативно желтого цвета (рис. 5 В).

С абаксиальной стороны центральной жилки колленхимный слой выражен слабее. Он занимает от четырех до шести слоев клеток, что в глубину листа составляет 233 мкм. Колленхима уголкового типа с изредка встречающимися, заметными межклетниками (рыхлая). Клеточных включений в колленхимных и паренхимных тканях не обнаружено.

Эпидермис абаксиальной и адаксиальной стороны сходны по строению, однако клетки последнего более крупные (рис. 5 В).

Центральной проводящей жилкой является один крупный С-образный пучок коллатерального типа с одинаковым объемом колленхимы и флоэмы. Признак не селективен и возможно характерен для всех представителей рода *Syringa*, что в дальнейшем будет доказано последующих исследованиях.

Пучок сильно пигментирован за счет мелкоклеточной флоэмной части, а также живых протопластов клеток сердцевинных лучей ксилемы. Со стороны

флоэмной ткани склеренхима выражена слабо. Ее клетки положительно реагируют на лигнин (рис. 5 В). Они достаточно тонкостенные.

Эпидермальные клетки на абаксильной стороне листа угловатые не правильной иногда прямоугольной или ромбической формы. Как правило клетки верхнего эпидермиса незначительно вытянуты, что более характерно для эпидермального слоя над жилками. Клеточные стенки целлюлозные без выраженных пор. Кутикулярный слой слабо заметен по жилкам в виде продольных морщин (рис. 5 Г).

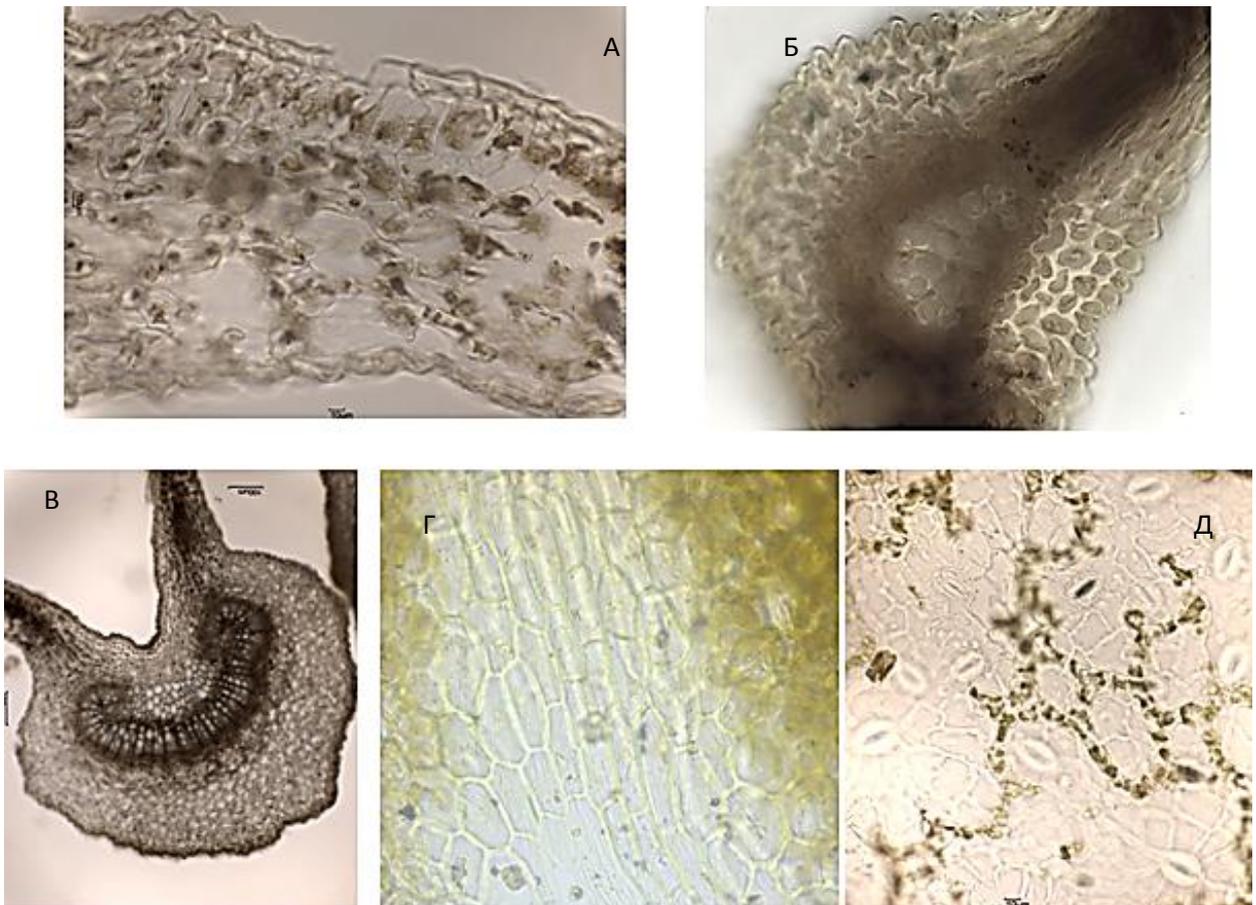


Рисунок 5 – Анатомические особенности листа сирени венгерской:

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)

С нижней стороны листовой пластинки клетки эпидермы неправильной формы с извилистым краем. Над жилкой они, как правило, вытянутые, почти

прямоугольные. Кутикулярный слой нижнего эпидермиса выражен сильнее. Кутикула продольно морщинистая. Она в области желёзок и устьичных аппаратов часто радиально морщинистого типа (рис. 5 Д).

Так же, как и в случае с. обыкновенной лист с. венгерской гипостоматический. Устьичные аппараты, расположенные только с нижней стороны листовой пластинки, встречаются часто и имеют анамоцитный тип строения (рис. 5 Д).

3.2. Сравнительная петиолярная анатомия сирени венгерской и сирени обыкновенной

В виду низкой специфичности анатомо-гистологических особенностей листовых пластинок *S. обыкновенной* и *S. венгерской* нами проведён дополнительный анализ петиолярных признаков – анатомического строения черешков листьев сравниваемых видов сирени. В сравнительном анализе петиолярных признаков оценивали поперечные сечения черешков в трёх основных частях: базальной, медиальной и апикальной. При этом оценивались такие признаки строения, как очертания поперечных срезов, особенности арматурных тканей черешков, особенности проводящей системы черешков, наличие опушения на поверхности черешков, наличие клеточных включений и их тип.

Анализ очертаний поперечных сечений черешков (рис. 6) 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 *S. обыкновенной* желобовидное углубление округлое, у *S. венгерской* оно имеет узко-треугольную форму, сохраняющуюся от базальной до апикальной части черешка.

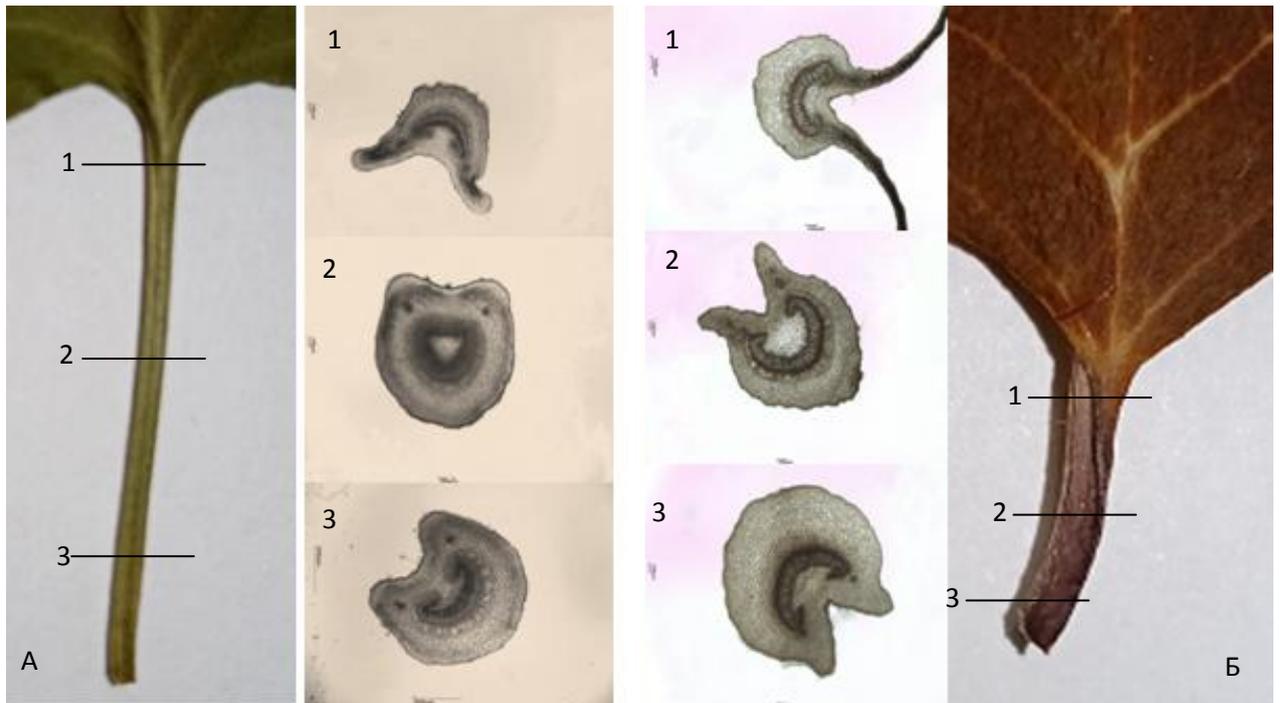


Рисунок 6 – Морфолого-анатомические особенности черешка сирени венгерской и сирени обыкновенной:

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)

Проводящая система черешков сравниваемых видов сирени отличается слабо и представлена одним крупным центральным С-образным пучком закрытого коллатерального типа и мелкими вторичными пучками, локализованными по верхним углам поперечных срезов, ориентируясь на фрагменты избегающей листовой пластинки. Как правило, вторичных пучков всего два (справа и слева) у каждого вида сирени. Однако ближе к апикальной части их количество может меняться от 2-х до 3-х.

Основное гистологическое отличие проводящей системы черешка с. обыкновенной заключается в особенности слияния центрального С-образного пучка в округлую непучковую структуру, сохраняющуюся на протяжении всей длины. Непосредственная С-образность пучка наблюдается только в базальной

и апикальной частях среза. У *S. венгерской* С-образность центрального пучка сохраняется на протяжении всей длины черешка.

Исходя из результатов анализа петиолярных признаков сделан вывод о том, что наиболее селективными признаками, имеющими видовую специфичность для изучаемых таксонов, являются: отличия желобовидного углубления с адаксиальной стороны у *S. обыкновенной* – округлое, а у *S. венгерской* - узко-треугольное; строение центрального пучка в медиальной части черешка у *S. обыкновенной* слияние в непучковый тип строения, у *S. венгерской* сохранение С-образного центрального пучка.

Остальные гистологические признаки, такие как особенности армированности, строения основной паренхимы, опушение, не являются селективными для изученных видов.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. Впервые проведен сравнительный морфолого-анатомический анализ листьев сирени обыкновенной и сирени венгерской.

2. В ходе изучения морфолого-анатомических признаков у листьев сирени обыкновенной обнаружены диагностические признаки, не характерные для листьев других видов сирени, а также признаки, характерные для листьев всех представителей рода Сирень.

3. Установлено, что особенностями микроскопии листьев сирени обыкновенной является наличие большого количества железистых трихом, преобладающее количество которых находится с нижней стороны, но изредка встречающиеся и на верхней части листа, отчетливо просматривается прямоугольная форма центральной жилки.

4. Основные диагностические признаки целевого сырья – листьев сирени выявлены при анализе петиолярной анатомии черешков. К ним относятся отличия желобовидного углубления и строение центрального пучка в медиальной части черешка.

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЯ ФИТОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ СЫРЬЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ И СОРТОВ РОДА СИРЕНЬ

Листья и цветки сирени обыкновенной широко применяются в народной медицине [5, 44]. Однако эти виды сырья не зарегистрированы на территории Российской Федерации, тем самым делая невозможным применение препаратов на основе листьев сирени обыкновенной и цветков сирени обыкновенной. В связи с этим возникает необходимость проведения фитохимического исследования листьев и цветков сирени. Для последующей разработки проекта фармакопейной статьи необходимо продумать методики качественного и количественного анализа ведущих групп БАВ [14, 15, 16, 17].

В листьях сирени обыкновенной содержатся флавоноиды (рутин, никотифлорин, астрагалин, изокверцитин), иридоидные гликозиды (сирингопикрозид, сиренгенон, сирингоксид, неулоропеин, изоолеуропеин, изолигустрозид), фенилпропаноиды (сирингин и лигнановые гликозиды – 4-О-глюкозид оливила) [57, 112].

Из цветков сирени обыкновенной были выделены такие вещества, как салидрозид и его производные, актеозид, неоактеозид и некоторые другие фенилпропаноиды, кроме них было установлено присутствие, а также рутина и никотифлорина [98, 104, 117].

В связи с поставленной целью и соответствующими задачами был выстроен алгоритм исследования (рис. 7). В нем описан весь путь актуализации исследования, обоснование выбора того или иного вида сырья, взаимосвязь предыдущих исследований с современными, а также выводы о перспективах дальнейшего изучения объектов, связанных с родом Сирень.

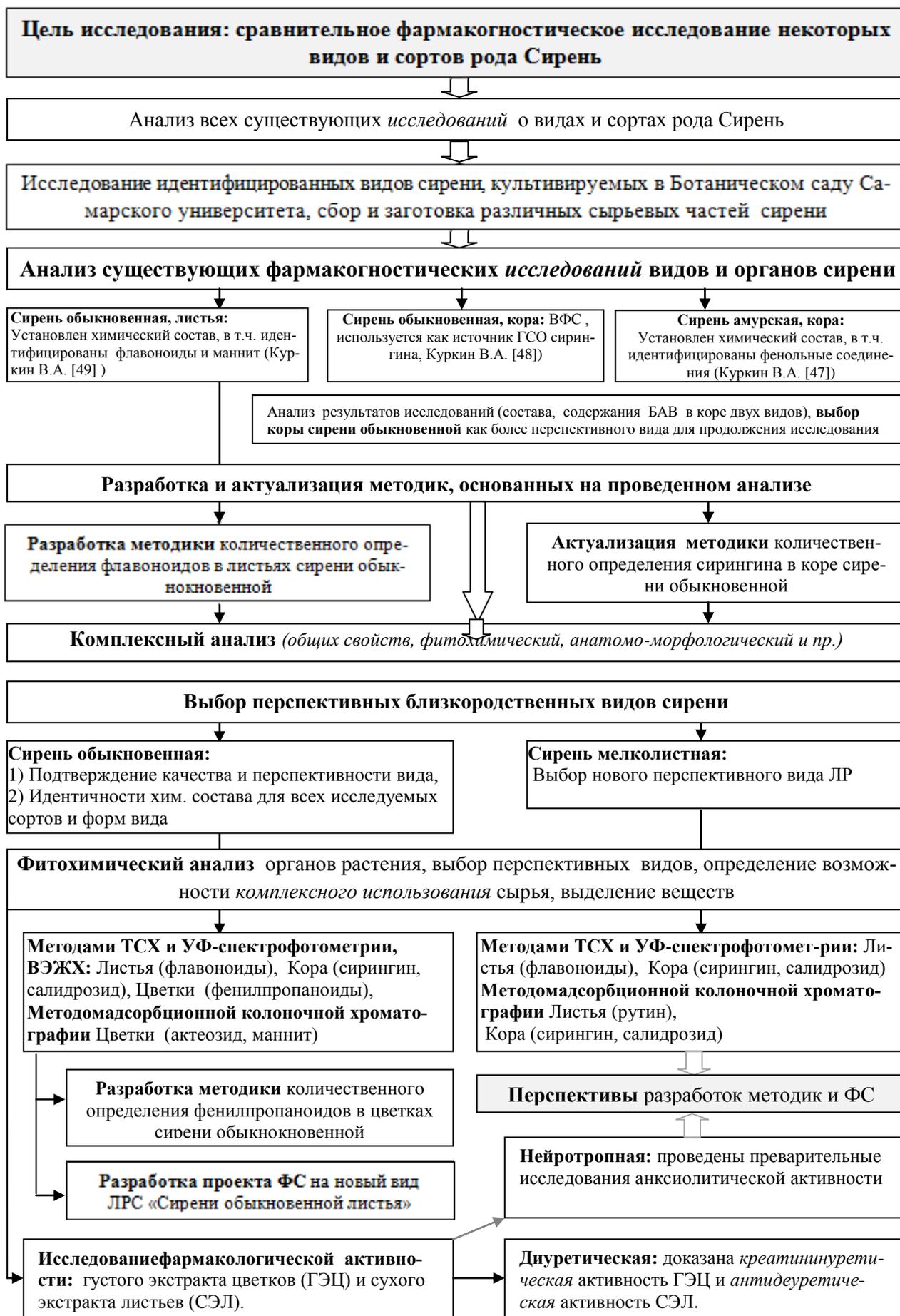


Рисунок 7 – Алгоритм проведения исследования.

4.1. Сравнительное фитохимическое исследование надземных органов сирени обыкновенной методом тонкослойной хроматографии

С точки зрения комплексного использования лекарственного растительного сырья особый интерес вызывают растения, ЛРС которых зарегистрированы на территории Российской Федерации. На рисунке 7 показаны результаты ТСХ-анализа.

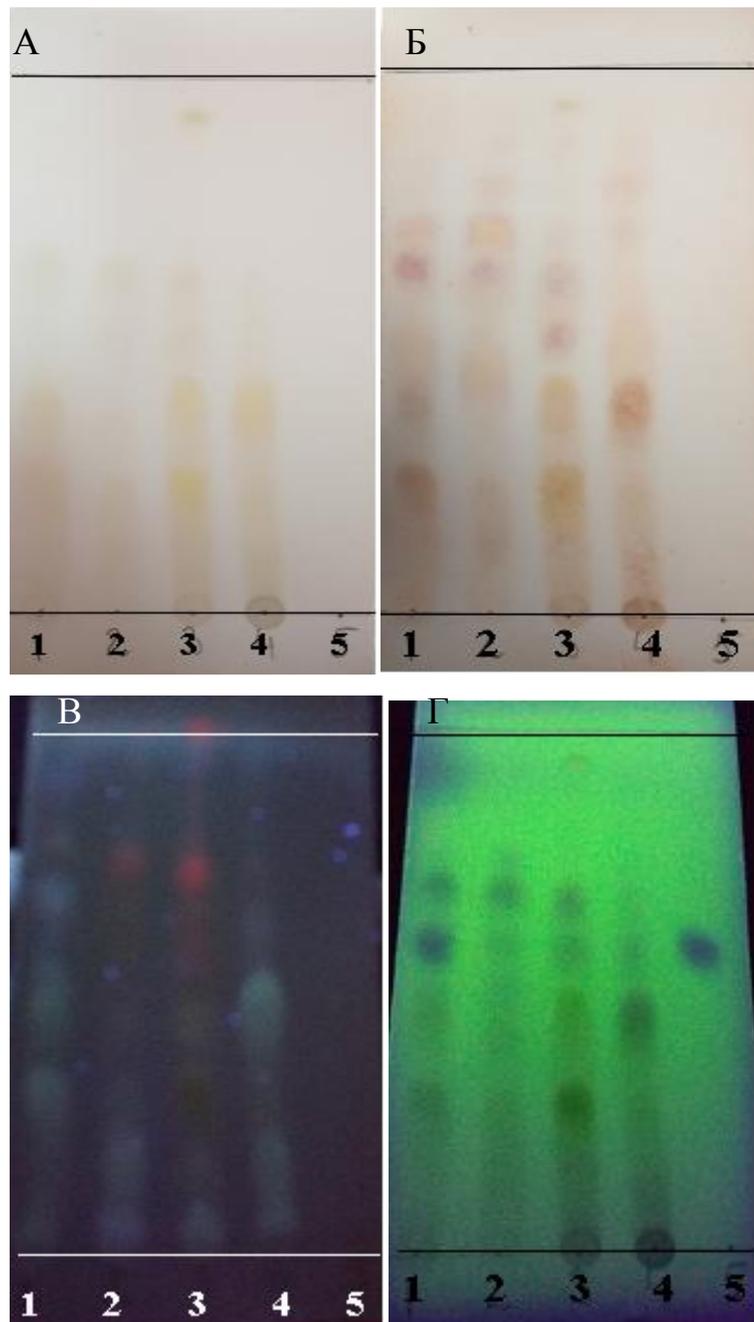


Рисунок 7 – Хроматограмма анализа фитохимического состава спиртовых извлечений из различных органов сирени обыкновенной в системе хлороформ

- этиловый спирт – вода 26:16:3; А – дневное освещение, Б – после обработки раствором ДСК; В – детекция в УФ – свете (длина волны 366 нм); Г – детекция в УФ – свете (длина волны 254 нм).

Обозначения: 1 – извлечение из коры сирени обыкновенной(96%); 2 – извлечение из почек сирени обыкновенной (96%); 3 – извлечение из листьев сирени обыкновенной (96%); 4 – извлечение из цветков сирени обыкновенной (96%); 5 – раствор СО сирингина.

Для проведения сравнительного анализа различных надземных органов сирени обыкновенной был выбран метод тонкослойной хроматографии. Система гликозидная 26:16:3 (хлороформ – этиловый спирт 96% - вода).

Анализ хроматограммы фитохимического состава спиртовых извлечений из различных органов сирени дает обоснованный повод для дальнейшего научного исследования листьев и цветков сирени.

Также научный интерес проявляется к близкородственным видам ЛР и их различным формам и сортам.

Остальные сырьевые единицы еще не изучены и не зарегистрированы. Для сирени обыкновенной изученным и зарегистрированным видом сырья является кора, источник получения СО сирингина (элеутерозида В).

4.2. Сравнительное фитохимическое исследование листьев различных видов сирени

Далее проводилось фитохимическое исследование листового сырья сирени разных видов: сирени обыкновенной, сирени венгерской, сирени мелколистной, сирени волосистой, сирени Звегинцева, сирени Генри и сирени амурской методом дифференциальной спектрофотометрии. В таблице 6 приведены все особенности проведения данной методики.

Таблица 6 – Особенность проведения спектрофотометрического определения флавоноидов в листьях различных представителей рода Сирень (*Syringa L.*)

Метод	Дифференциальная спектрофотометрия
Экстрагент	70 % этиловый спирт
Соотношение «Сырье: экстрагент»	1:50
Время экстракции	45 мин
Степень измельчения сырья	1 мм
Масса навески	1 г
Метод экстракции	Однократная спиртоводная экстракция на водяной бане (умеренное кипение) с присоединением обратного холодильника
Фильтрование	Бумажный фильтр «Красная полоса»
Раствор А	Готовое отфильтрованное извлечение из сырья
Раствор Б	1 мл извлечения, смешанный с 1 мл 3% $AlCl_3$ в мерной колбе на 25 мл, доведенный до метки 96% этиловым спиртом.
Измеряемая величина	Оптическая плотность
Длина волны, при которой наблюдается максимум поглощения	409-414 нм

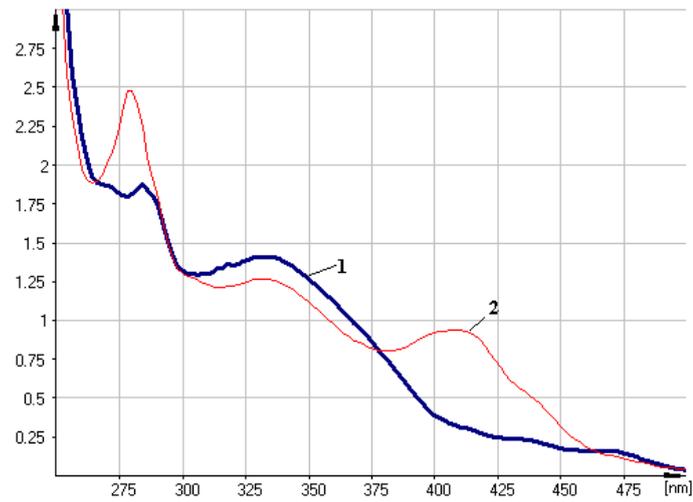


Рисунок 8 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени обыкновенной

Обозначения: 1 – раствор извлечения;

2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

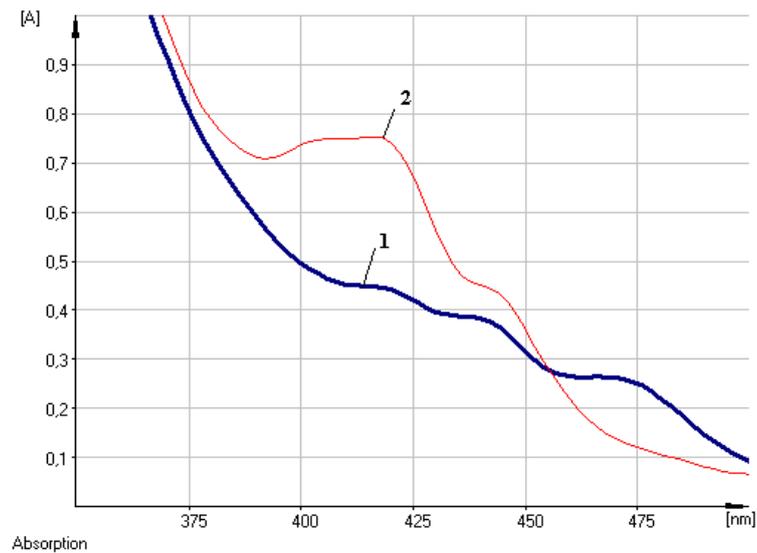


Рисунок 9 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени венгерской

Обозначения: 1 – раствор извлечения;

2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

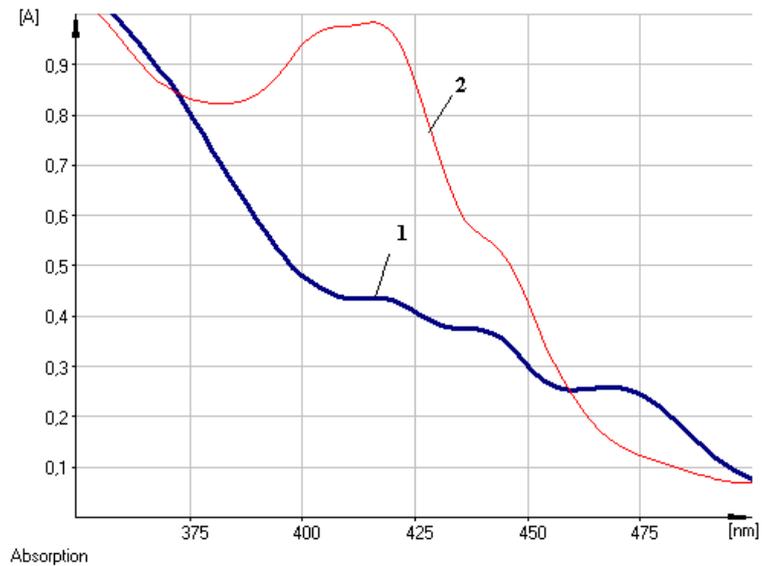


Рисунок 10 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени амурской

Обозначения: 1 – раствор извлечения;

2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

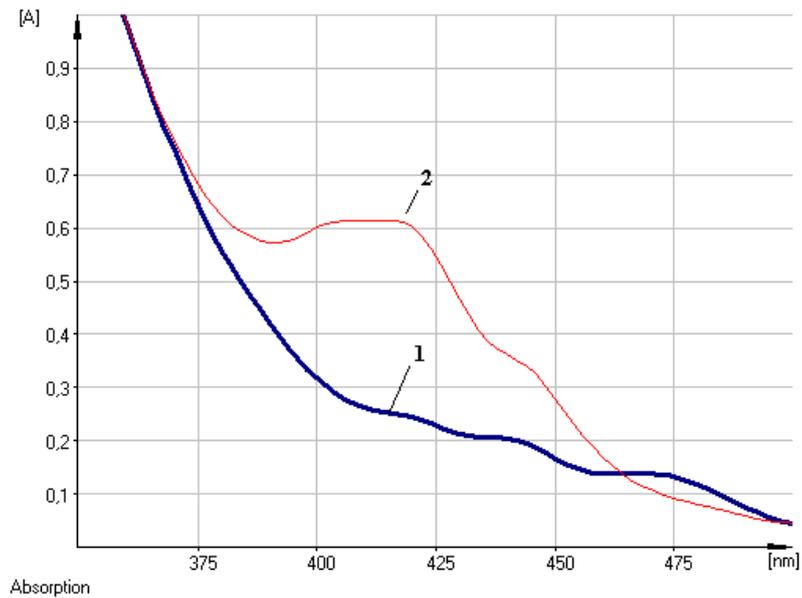


Рисунок 11 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени мелколистной

Обозначения: 1 – раствор извлечения;

2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

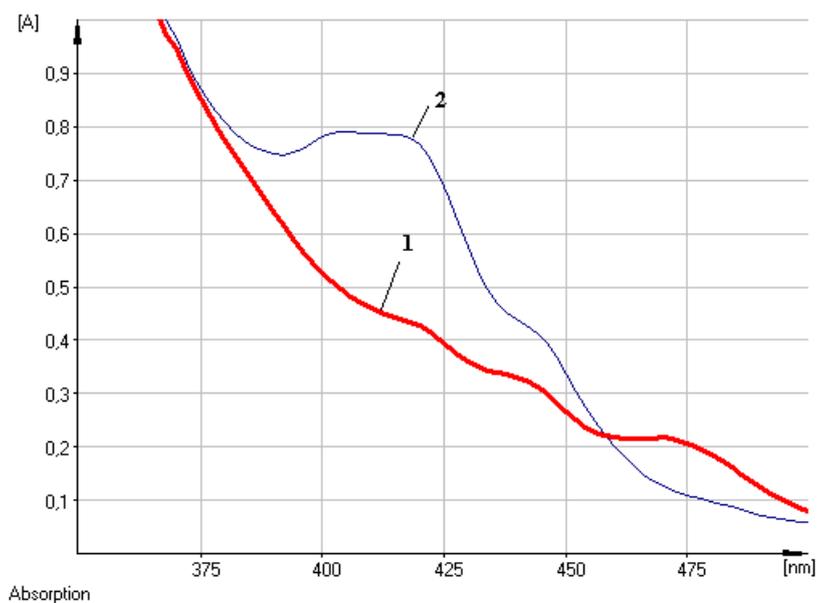


Рисунок 12 - Электронный спектр раствора водно-спиртового
извлечения из листьев сирени волосистой

Обозначения: 1 – раствор извлечения;

2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

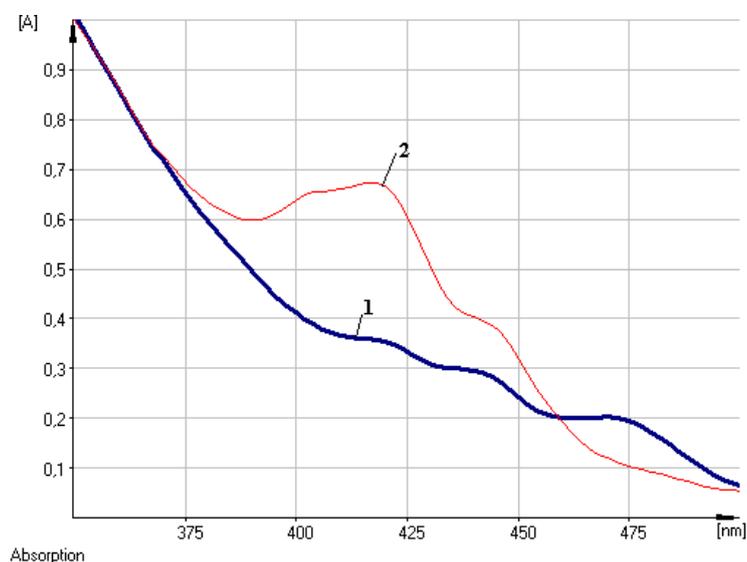


Рисунок 13 - Электронный спектр раствора водно-спиртового
извлечения из листьев сирени Звегинцева

Обозначения: 1 – раствор извлечения;

2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

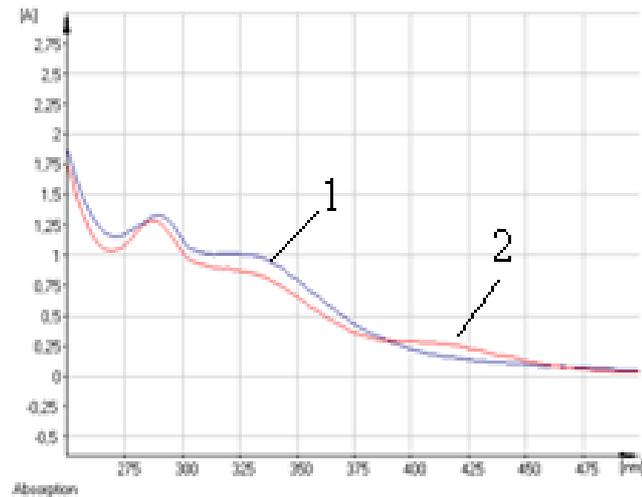


Рисунок 14 - Электронный спектр раствора водно-спиртового
извлечения из листьев сирени Генри

Обозначения: 1 – раствор извлечения;

2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

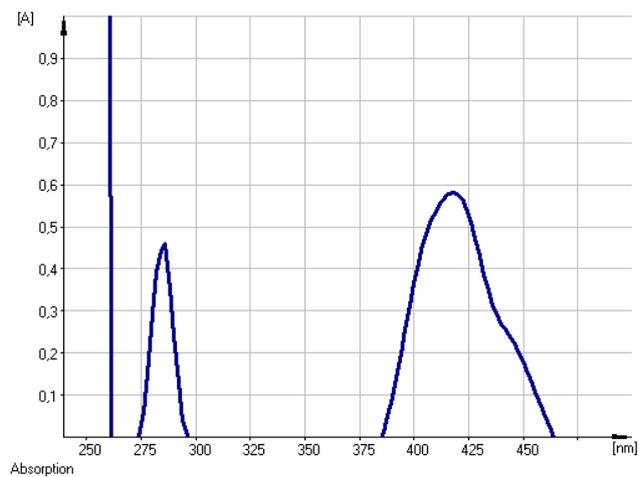


Рисунок 15 - Электронный спектр раствора водно-спиртового
извлечения из листьев сирени обыкновенной (дифференциальный вариант)

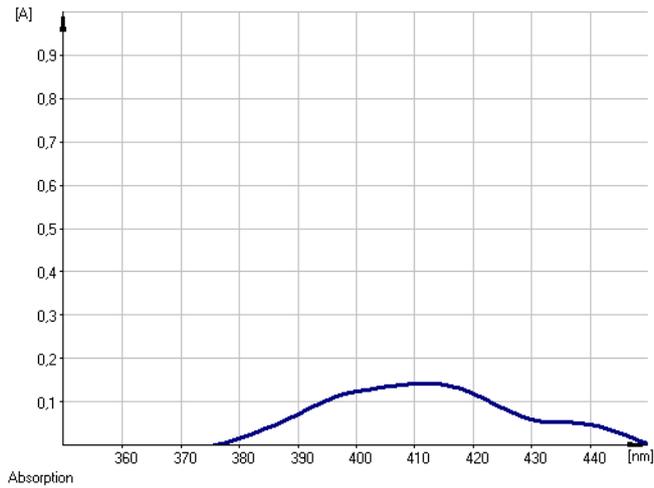


Рисунок 16 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени венгерской (дифференциальный вариант)

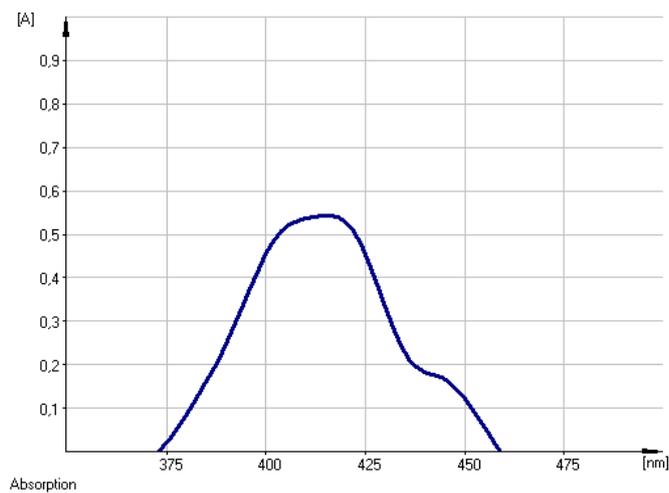


Рисунок 17 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени амурской (дифференциальный вариант)

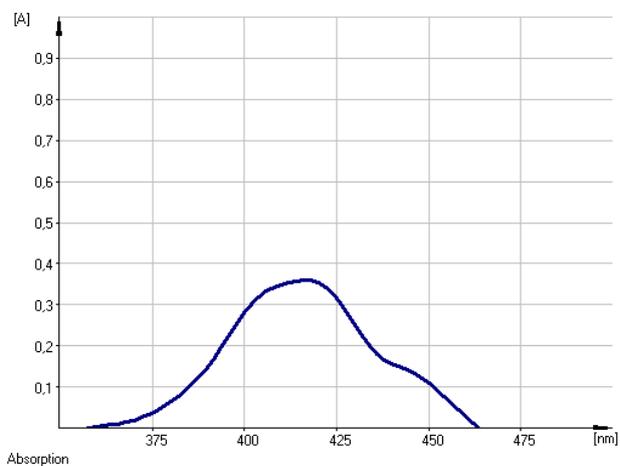


Рисунок 18 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени мелколистной (дифференциальный вариант)

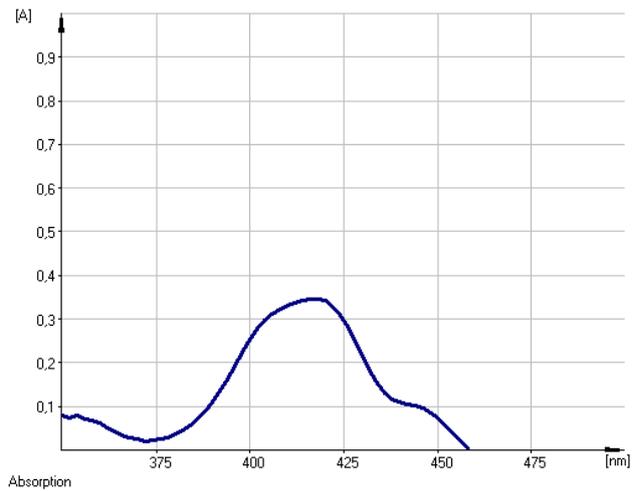


Рисунок 19 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени волосистой (дифференциальный вариант)

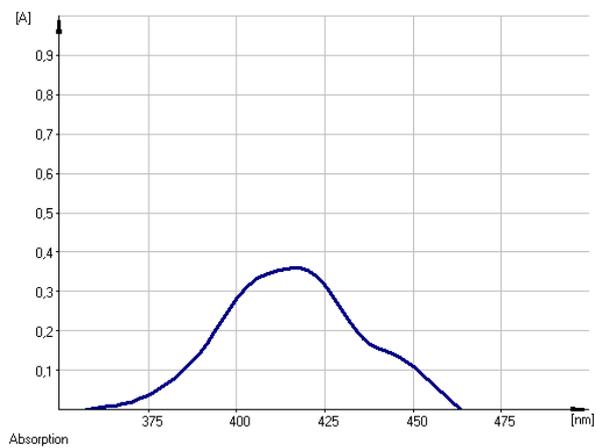


Рисунок 20 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени Звегинцева (дифференциальный вариант)

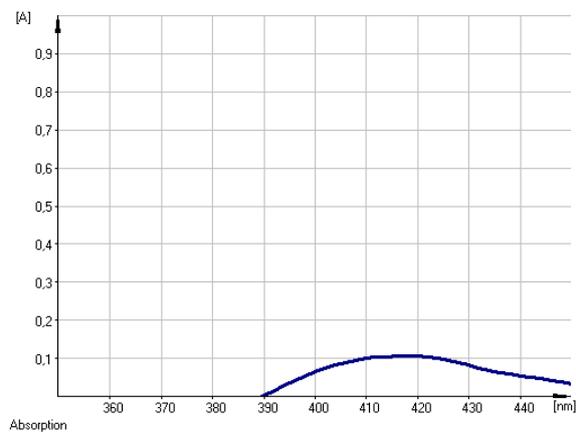


Рисунок 21 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени Генри (дифференциальный вариант)

Максимум поглощения во всех извлечениях (рис. 15-21) находится в области от 409 до 414 нм, что дает возможность рекомендовать СО рутин (максимум поглощения 412 ± 2 нм) к использованию в условиях дифференциальной спектрофотометрии.

Для более детального изучения перспективности исследуемых видов сырья было проведено определение суммы флавоноидов в пересчете на СО рутин для исследуемых образцов. Результаты сравнения представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Количественное исследование флавоноидов в листьях сирени

Образец сырья	Содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом сырье в пересчете на рутин, %
С. обыкновенная	$3,63 \pm 0,22$
С. венгерская	$0,91 \pm 0,06$
С. амурская	$2,56 \pm 0,15$
С. мелколистная	$3,83 \pm 0,23$
С. волосистая	$2,86 \pm 0,16$
С. Генри	$0,59 \pm 0,04$
С. Звегинцова	$1,05 \pm 0,06$

Таким образом, наиболее перспективными видами в качестве источника флавоноидов являются с. обыкновенная, с. мелколистная, с. амурская и с. волосистая.

4.3. Фитохимическое сравнение цветков различных видов и сортов сирени

В настоящее время на территории Российской Федерации произрастает около 30 видов сирени [8, 17], из них только на сирень обыкновенную существует ВФС (42-2106-92). На территории Самарской области возможно культивирование около 10 видов. Нами было проведено предварительное фитохимическое исследование цветков некоторых видов и сортов рода сирень, являющихся перспективными для дальнейшего расширения сырьевой базы.

4.3.1. Сравнение методом ТСХ

Различные сорта сирени обыкновенной также представляют научный интерес, как и различные виды данного рода. Научный интерес для расширения сырьевой базы представляют:

- различные виды сирени и качественные характеристики их цветков;
- различные сорта сирени обыкновенной, и качественные характеристики их цветков.

С целью анализа сходств и различий в химическом составе цветков разных сортов, а также несортных форм сирени обыкновенной было решено использовать метод тонкослойной хроматографии, который дает достаточно полные и наглядные результаты сравнения.

Наиболее подходящей системой для гликозидных веществ фенольной природы, которые содержатся в цветках сиреней, является система хлороформ - этанол 96% - вода в соотношении 25:18:2 (рис. 22).

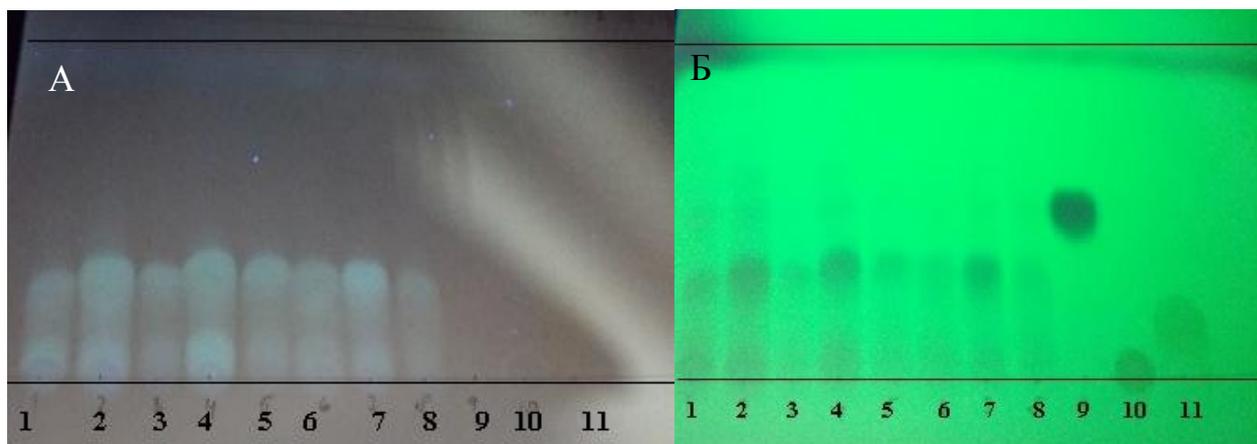


Рисунок 22 - Хроматограмма сравнительного фитохимического анализа спиртовых извлечений из цветков некоторых сортов сирени обыкновенной в системе хлороформ – этанол 96% - вода 25:18:2: А – детекция в УФ – свете (длина волны 366 нм); Б – детекция в УФ – свете (длина волны 254 нм).

Обозначения: 1 – цветки сирени обыкновенной сорта Эдмон Буансье (96%); 2 – цветки сирени обыкновенной сорта мадам Антуан Бюхнер(96%); 3 - цветки сирени обыкновенной сорта Анна Шпет (96%); 4 – цветки сирени обыкновенной сорта Леон Гамбетта (96%); 5 – цветки сирени обыкновенной сорта Шарль Жолли (96%); 6 – цветки сирени обыкновенной формы белой (96%); 7 –

цветки сирени обыкновенной сорта Красавица Москвы (96%); 8 – цветки сирени обыкновенной формы сизой (96%); 9 – раствор СО сирингина; 10 – раствор СО хлорогеновой кислоты; 11 – раствор СО рутина.

В результате сравнительного фитохимического исследования различных сортов и форм сирени обыкновенной можно сделать вывод об идентичности химического состава исследуемых образцов.

Результаты исследований показывают, что сорта и формы сходны по химическому составу, а значит подходят для совместной заготовки и изготовления препаратов из комплексного сырья, так как это не будет отражаться на качестве заготавливаемого сырья, а показатель содержания действующих веществ останется в пределах нормы.

4.3.2. Сравнение образцов цветков сирени обыкновенной спектрофотометрическим методом

С целью выявления наиболее перспективных видов было решено провести сравнительное фитохимическое исследование цветков некоторых видов сирени методом УФ-спектроскопии. Максимумы поглощения изученных спиртоводных извлечений попали в интервал от 328 до 332 нм (рисунок 23-26).

Для исследования брали около 1 г измельченных до размера частиц менее 1 мм цветков сирени обыкновенной (волосистой, Генри, или Мейера) перенесли в колбу термостойкого стекла объемом 250 мл. Прилили 100 мл экстрагента (60% этилового спирта). Зарегистрировали вес первоначальной массы.

К колбе подключили обратный холодильник. Грели массу на водяной бане на протяжении 45 минут при умеренном кипении.

Охлаждение полученного извлечения проводили при комнатной температуре на протяжении 30 минут, вновь взвешивали и восполняли недостающую массу добавлением экстрагента до первоначально зарегистрированной массы (раствор А).

Фильтрацию готового извлечения во флакон темного стекла проводили через бумажный фильтр.

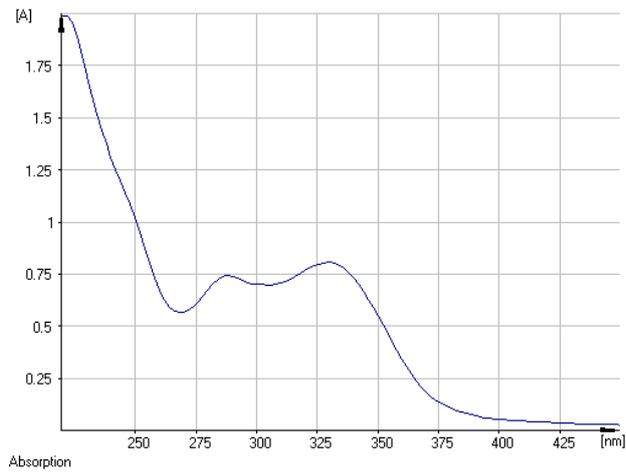


Рисунок 23 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из цветков сирени обыкновенной

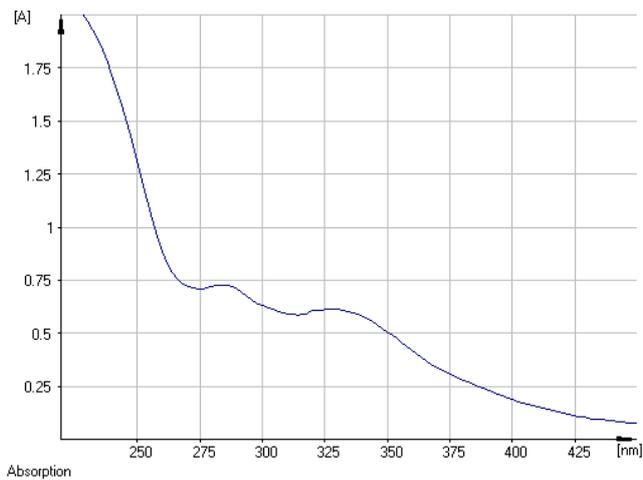


Рисунок 24 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из цветков сирени волосистой

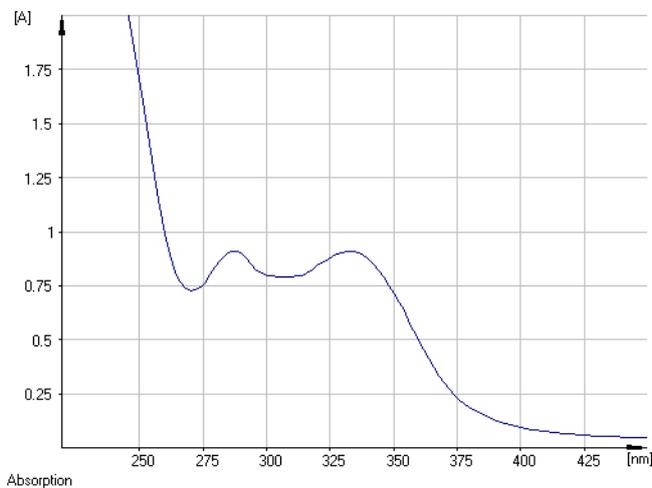


Рисунок 25 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из цветков сирени Генри

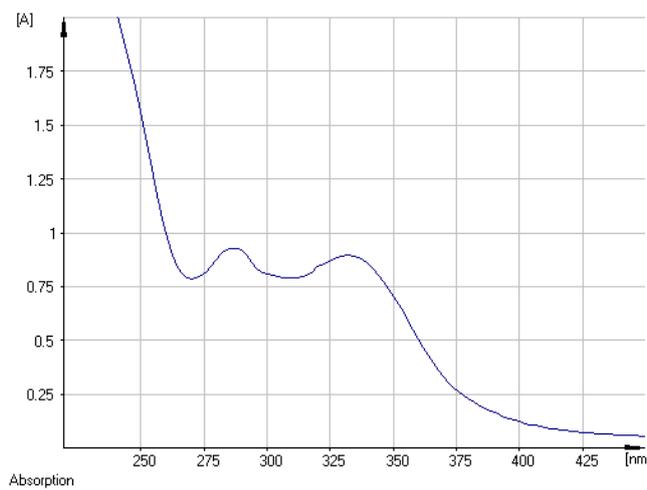


Рисунок 26 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из цветков сирени Мейера

В условиях прямой спектроскопии (рис. 23-26) максимум поглощения всех извлечений находится в области 328-332 нм, что делает возможным рекомендацию использования в качестве стандартного образца хлорогеновую кислоту, максимум поглощения которой расположен при длине волны 330 ± 2 нм.

Для более детального изучения перспективности исследуемых видов сырья было проведено определение суммы фенилпропаноидов в пересчете на СО хлорогеновую кислоту для исследуемых образцов. Результаты сравнения представлены в таблице 8.

Таблица 8 – количественное исследование фенилпропаноидов в цветах сирени

Образец сырья	Содержание суммы фенилпропаноидов в абсолютно сухом сырье в пересчете на хлорогеновую кислоту, %
С. обыкновенная	$4,51 \pm 0,08$
С. волосистая	$3,31 \pm 0,06$
С. Мейера	$4,88 \pm 0,09$
С. Генри	$5,59 \pm 0,11$

4.4. Сравнительное фитохимическое исследование сирени обыкновенной и сирени мелколистной

В результате многочисленных фитохимических исследований различных представителей рода сирень нами были определены наиболее перспективные виды с точки зрения содержания БАВ. К ним были отнесены сирень обыкновенная и сирень мелколистная.

Дальнейшее сравнительное исследование показало сходство химического состава листьев и коры вышеуказанных видов сырья (рис. 27).

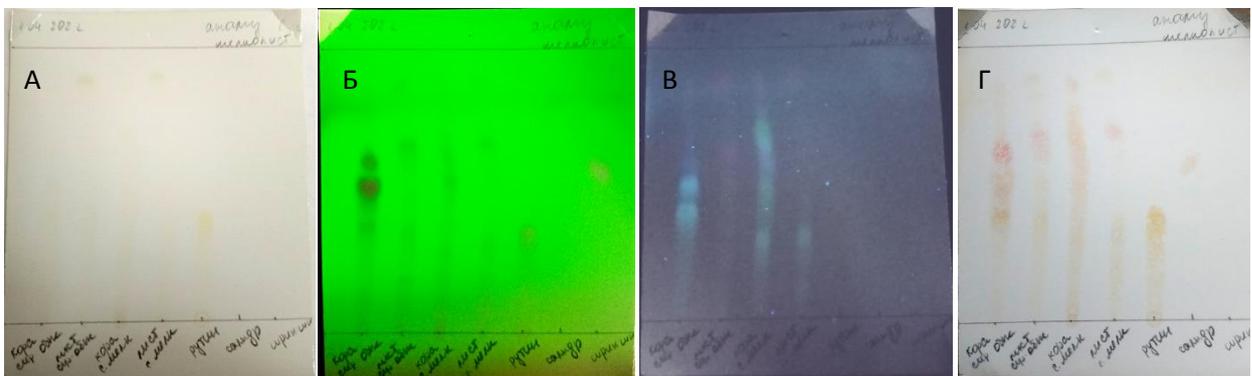


Рисунок 27 – Хроматограмма сравнительного фитохимического анализа сирени обыкновенной и сирени мелколистной в системе хлороформ – этанол 96% - вода 25:18:2: А – детекция в видимой области; Б - детекция в УФ – свете длина волны 366 нм); В – детекция в УФ – свете (длина волны 254 нм); Г - детекция в результате обработки реактивом ДСК.

По результатам исследования можно сделать вывод о целесообразности дальнейшего изучения сирени обыкновенной и выделения из нее индивидуальных веществ.

4.4. Проведение фитохимического анализа при помощи выделения индивидуальных веществ из листьев, цветков и коры сирени

Для более детального изучения фитохимического состава коры и листьев сирени мелколистной выделили индивидуальные вещества. Выбрали исследование цветков сирени обыкновенной с применением хроматографической колонки.

В мае 2019 года, в мае 2020 года провели заготовки исследуемых образцов. Место сбора - Ботанический сад Самарского университета.

4.4.1. Анализ цветков сирени обыкновенной

Предварительная подготовка сырья для оптимизации процесса выделения индивидуальных веществ проводилась по схеме, представленной в таблице 9.

Таблица 9 – Особенности пробоподготовки сырья для выделения индивидуальных веществ

Образцы сырья	<ol style="list-style-type: none"> 1. Цветы сирени обыкновенной (Самарская область, с. Верхний Сускан, 2020 г.). 2. Листья сирени мелколистной (Самарская область, Ботанический сад Самарского университета, 2021 г.). 3. Кора сирени мелколистной (Самарская область, Ботанический сад Самарского университета, 2021 г.).
Масса навески (воздушно-сухое сырье)	200 г
Экстрагент	<ol style="list-style-type: none"> 1. Для цветков сирени обыкновенной 60% этиловый спирт. 2. Для листьев сирени мелколистной 70% этиловый спирт. 3. Для коры сирени мелколистной 70% этиловый спирт.
Методика проведения экстракции	<ol style="list-style-type: none"> 1 день. Отвешенную навеску сырья помещают в колбц с притертой пробкой, заливают трехкратным объемом экстрагента, оставляют на сутки для набухания. 2 день. Добавляют 1/3 от ожидаемого объема готового извлечения. Оставляют настаиваться на сутки. 3 день. Сливают полученное извлечение в мерный цилиндр, измеряют объем, затем переливают во флакон для готового извлечения. Добавляют 1/3 объема экстрагента и еще разницу в

	<p>объеме, прилитом наконуни и полученном сегодня.</p> <p>4 день. Сливают полученное извлечение в мерный цилиндр, измеряют объем, затем переливают во флакон для готового извлечения. Добавляют 1/3 объема экстрагента и еще разницу в объеме, прилитом наконуни и полученном сегодня.</p> <p>5 день. На водяной бане в течение получаса кипятим колбу с извлечением. Сливаем во флакон с готовым извлечением, доводим экстрагентом объем до ожидаемого.</p>
Полученное извлечение	Настойка сырья 1:5.
Дальнейшие методы пробоподготовки	Упаривание до минимального объема под вакуумом
Конечный продукт	Густой экстракт (50 мл).

На специально отобранный сорбент - силикагель L 40/100 мкм из расчета - 50% от взятой массы сырья, т.е. 100,0 г. сорбента нанесли извлечение из цветков сирени обыкновенной. Подготовили базовый слой - чистый силикагель диаметром 6 см и высотой 6 см (взвесь с использованием хлороформа).

Высушенный порошок силикагеля, смешанного с экстрактом, нанесли на базовый слой.

Далее провели элюирование адсорбционной жидкостной хроматографической колонки. Схема элюирования приведена в таблице 10.

Полученные элюированием фракции собирались в маркированные колбы и упаривались на роторной вакуумной установке. Затем следовало перенесение концентрированных фракций в стеклянные флаконы и дальнейшее их исследование.

Процесс разделения веществ оценивался визуально (по изменению интенсивности окраски), для более точного определения применялся метод ТСХ (хроматографическая система: хлороформ – этанол 96 % – вода 26:16:3). Как раствор сравнения использовалась настойка на 60% спирте цветков сирени обыкновенной.

Таблица 10 – Элюирование экстракта из цветков сирени обыкновенной методом адсорбционной жидкостной 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

4.4.2. Исследование фракций цветков сирени обыкновенной

Индивидуальные вещества были обнаружены при помощи метода ТСХ. Во фракциях 18 и 19 (элюентом стала смесь хлороформа и этанола при соотношении 60:40) было обнаружено соединение 1 (Табл.9). Путем перекристаллизации фракций № 18 и 19, а точнее растворения осадка в 70% этаноле при нагревании, удалось отделить осадок и исследовать надосадочную жидкость. Соединение 1 находилось в маточнике фракции № 18, выделение которого стало возможно благодаря перенесению на полиамид марки «Wolem» для более тонкой очистки. На хроматографическую колонку был нанесен сухой порошок, состоящий из смеси маточника и полиамида (диаметр – 2 см; высота – 2 см). С применением воды и водно-спиртовых растворов различных концентраций проводилось вымывание веществ с полученной хроматографической колонки.

Соединение 2 было выделено из 22-24 фракций (элюент - смесь хлороформа и этанола 70:30). После ТСХ-анализа было принято решение об объединении фракций, после чего полученный объединенный маточник фракций 22-24 декантировали, а полученный осадок, в котором содержалось вещество 2, промывали элюэнтном и с использованием ТСХ анализа, после чего вновь определяли чистоту исследуемого образца.

4.4.3. Выделение веществ из листьев и коры сирени мелколистной

Сравнительное фитохимическое исследование разных видов сирени, проведенное выше, показало, что наиболее перспективными по содержанию флавоноидов являются сирень мелколистная и сирень амурская. Дальнейший анализ особенностей культивирования и климатической приспособленности видов к средней полосе России, а также с целью облегчения сбора сырья (сирень амурская представляет собой дерево до 20 м высотой), обосновал выбор для последующих исследований именно листья сирени мелколистной [19, 22, 59].

Комплексное использование лекарственных растений - листья, кора веток – повышают эффективный выход сырья. Поэтому кору сирени тоже включили в объект исследования.

Место заготовки исследуемых образцов - Ботанический сад Самарского университета, где специалисты сразу провели видовую идентификацию.

Использовали воздушно-сухое сырье.

Отобрали 200 г сырья, измельчили и экстрагировали этанолом 70% концентрации.

Также как и для цветков сирени обыкновенной, было проведено трехкратное экстрагирование. Извлечения листьев, полученные на каждом этапе экстракции, объединили и подвергли упариванию под вакуумом до объема 50 мл.

С извлечениями из коры поступили аналогично.

Полученный экстракт (масса сырья 200 г) смешали с 50% от взятых масс навесками сорбента по 100,0 г (марка силикагеля L 40/100 мкм).

Специально отобрали сорбент - силикагель L 40/100 мкм из расчета - 50% от взятой массы сырья, т.е. 100,0 г. сорбента.

Подготовили базовый слой - чистый силикагель диаметром 6 см и высотой 6 см (взвесь с использованием хлороформа).

Высушенный порошок силикагеля, смешенного с экстрактом, нанесли на базовый слой.

Далее провели элюирование адсорбционной жидкостной хроматографической колонки аналогично схеме элюирования цветков сирени обыкновенной (табл. 8).

4.4.4. Исследование фракций листьев и коры сирени мелколистной

Диагностически важные вещества удалось выявить методом ТСХ после анализа полученных фракций.

В результате хроматографического анализа листьев сирени мелколистной удалось выделить индивидуальное вещество. Из фракций под номерами 24-26 удалось выделить соединение 3 (табл. 9) (хлороформ – этанол 60:40). Для более тонкой очистки объединенные фракции 24–26 использовали микроколоночный метод с полиамида марки «Wolem». Промывание экстракт, нанесенного на микроколоночку, осуществляли водой и водными растворами этанола различных концентраций. В результате очистки на полиамиде было выделено вещество 3(элюент – этанол 40 % концентрации).

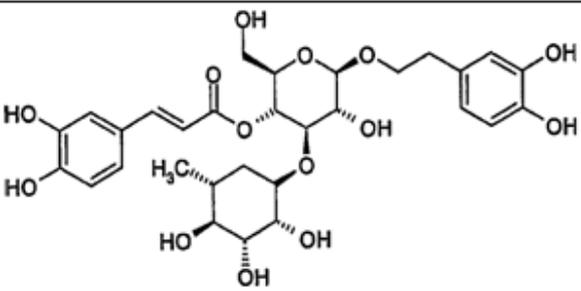
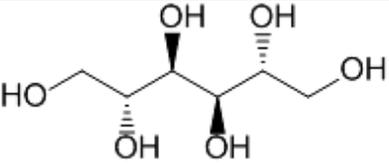
Из коры сирени мелколистной было выделено два индивидуальных вещества.

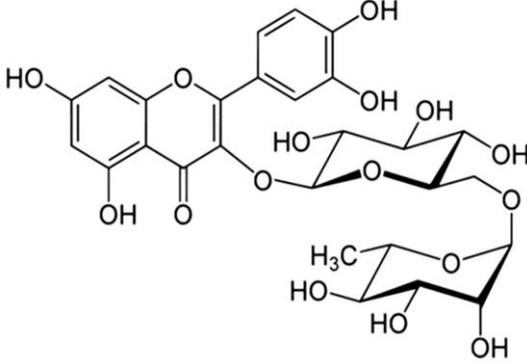
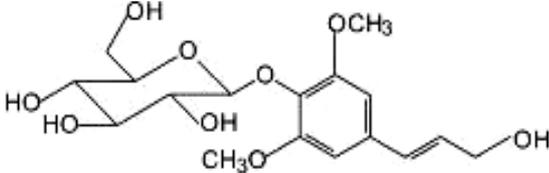
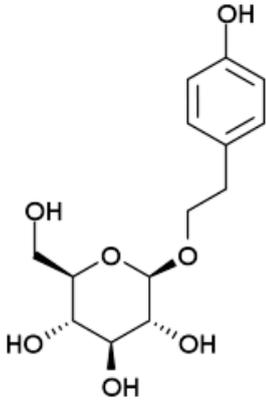
Соединение 4 удалось выделить из 16-18 фракций (элюент - смесь хлороформа и этанола 70:30). Маточник, полученный в результате объединения фракций, растворили в воде, полученный раствор перекристаллизовали из водного раствора и с использованием ТСХ анализа определили чистоту исследуемого образца. Из фракций 13-35 удалось получить соединение 5 путем растворения полученного объединенного маточника в смеси хлороформа-спирта 4:1, после чего методом ТСХ-анализа удалось определить чистоту образца.

4.4.5. Характеристики и идентификация выделенных веществ

Выделенные из фракций 18,19, 22-24 вещества цветков сирени обыкновенной, из фракций 24-26 листьев сирени мелколистной и из фракций 16-18 и 13-15 коры сирени мелколистной анализировали различными методами с целью установления их истинной структуры. К таким методом отнеслись следующие: ТСХ, кислотный гидролиз, ферментативный гидролиз, спектрофотометрия, ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия. В таблице 11 представлены основные физико-химические характеристики веществ, выделенных из цветков сирени обыкновенной, листьев и коры сирени мелколистной.

Таблица 11 – Вещества, выделенные методом адсорбционной жидкостной колоночной хроматографии из цветков сирени обыкновенной, листьев и коры сирени мелколистной, их физико-химические свойства

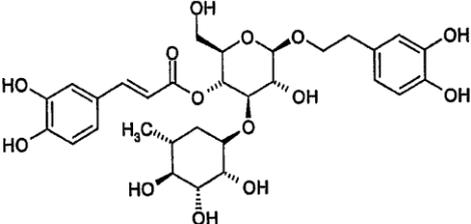
№ п/п	Название соединения	Химическая формула	Характеристики
1.	Актеозид $C_{29}H_{36}O_{15}$		Светло-желтое аморфное вещество
2.	Маннит $C_6H_{14}O_6$		Белые игольчатые кристаллы

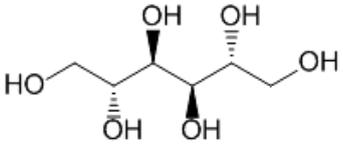
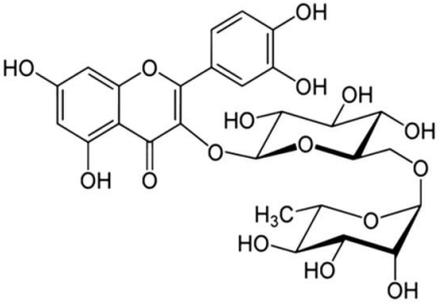
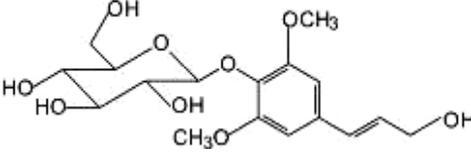
3.	<p>Рутин</p> <p>$C_{27}H_{30}O_{16}$</p>		<p>Кристаллическое вещество желтого цвета</p>
4.	<p>Сирингин</p> <p>$C_{17}H_{24}O_9$</p>		<p>Белые блестящие игольчатые кристаллы</p>
5.	<p>Салидрозид</p> <p>$C_{14}H_{20}O_7$</p>		<p>Игольчатые Кристаллы белого цвета</p>

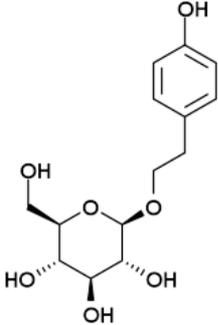
Для идентификации выделенных соединений применяли следующие методы: УФ-спектроскопию; ^1H -ЯМР-спектроскопию; ^{13}C -ЯМР-спектроскопию; результаты химических превращений. Прибор Bruker micrOTOF II позволил провести регистрацию масс-спектров полученных соединений методом электрораспылительной ионизации (ESI). С целями измерения использовались на положительные ионы. Диапазон сканирования масс протекал в диапазоне от m/z 50 до 3000. Для ввода исследуемой пробы использовался шприцевой метод. В качестве пробы выступало растворенное в метаноле исследуемое, подающее-

ся в прибор со скоростью потока — 3 мкл/мин. В качестве газа-распылителя был использован азот (скорость подачи - 4 л/мин), исследование проходило при температуре интерфейса 180 °С. Кислотный гидролиз гликозидов (актеозид, рутин, салидрозид) осуществляли в присутствии 2 % хлористоводородной кислоты на кипящей водяной бане в течение 2 часов (табл. 12).

Таблица 12 – Идентификация выделенных соединений

№ п/п	Название соединения	Спектральные характеристики
1.	<p>Актеозид [8-О-β-D-глюкопиранозид (4''-О-α-L-рамнопиранозил-3''-О-кофеоил)-3,4-дигидроксифенилэтанол]</p> 	<p>¹H-ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 9.56 (1H, с, 4'-ОН-группа), 9.16 (1H с, 3'-ОН-группа), 8.68 (3H, с, 4-ОН-группа), 8.62 (1H, с, 3-ОН-группа), 7.43 (1H, д, J = 16 Гц, Н-7'), 6.98 (1H, д, J = 2.5 Гц, Н-2'), 6.94 (1H, дд, J = 2.5, 9 Гц, Н-6'), 6.73 (1H, д, J = 9, Н-5'), 6.58 (1H, д, J = 2.5 Гц, Н-2), 6.57 (1H, дд, J = 2.5, 9 Гц, Н-6), 6.46 (1H, д, J = 9, Н-5), 6.17 (1H, д, J = 16 Гц, Н-7'), 4.98 (уш.с, 1H, д, Н-1'''' рамнозы), 4.67 (д, 7 Гц, Н-111 глюкозы), 4.32 (1H, т, J = 6 Гц, Н-7), 2.67 (1H, т, J = 6 Гц, Н-8), 3.0-5.0 (м, 6H глюкозы + 4H рамнозы), 0.92 (3H, д, 6 Гц, CH₃ рамнозы).</p> <p>¹³C-ЯМР спектр (100.52 МГц, DMSO-d₆, δC, м.д.): 166.21 (C-9'), 149.18 (C-4'), 148.97 (C-7'), 146.17 (C-3'), 146.07 (C-4), 145.51 (C-3), 130.47 (C-1), 129.60 (C-1'), 125.83 (C-6'), 120.05 (C-6'), 116.81 (C-2, C-5'), 115.81 (C-2'), 115.23 (C-8'), 102.79 (C-1'' глюкозы), 79.56 (C-3''), 77.04 (C-2''), 75.02 (C-5''), 71.79 (C-4''), 61.24 (C-6''), 102.70 (C-1'''' рамнозы), 73.35 (C-4'''), 72.15 (C-2'''), 71.03 (C-3'''), 70.88 (C-5'''), 72.15 (C-8), 35.52 (C-7), 18.65 (C-6'''' рамнозы).</p> <p>Масс-спектр актеозид (HR-ESI-MS, 180 °C, m/z): m/z 642.2392 [M+NH₄]⁺, m/z 647.1946 [M+Na]⁺, m/z 663.1686 [M+K]⁺.</p>

2.	<p>Маннит</p> 	<p>^1H-ЯМР-спектр (300 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 3.4-3.6 м.д. (5H: 2CH₂, 1H-2), 4,1-4.4 (3H, H-3, H-4, H-5).</p> <p>^{13}C-ЯМР спектр (126,76 МГц, DMSO-d_6, δC, м.д.): 71.34 (C-3, C-4), 69.52 (C-2 и C-5), 63.86 (C-1 и C-6).</p> <p>Масс-спектр маннита (HR-ESI-MS, 180 °C, m/z): m/z 183.0863 [M⁺H]⁺, m/z 200.1129 [M+NH₄]⁺, m/z 205.0683 [M+Na]⁺, m/z 221.0422 [M+K]⁺.</p>
3.	<p>Рутин (3-О-рутинозид кверцетина)</p> 	<p>^1H-ЯМР-спектр (300 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.60 (1H, с, 5-ОН группы), 10.81 (1H, с, 7-ОН), 9.64 (1H, с, 4'-ОН-группа), 9.16 (1H, с, 3'-ОН-группа), 7.53 (1H, дд, 2,5 и 9 Гц, H-6'), 7.52 (1H, д 9 Гц, H-2'), 6.83 (д, 9 Гц, H-5'), 6.39 (д, 2.5 Гц, H-8), 6,19 (д, 2.5 Гц, H-6), 5,34 (1H, д, 7 Гц, H-1'' глюкозы), 4,37 (1H, с, H-1''' рамнозы), 5.1-3.1 (10H, м, 6H глюкозы + 4H рамнозы), 0.97 (1H, д, 6 Гц, 3H, CH₃ рамнозы).</p> <p>^{13}C-ЯМР спектр (126,76 МГц, DMSO-d_6, δC, м.д.): C-4 (177.40), C-7 (164.11), C-5 (161.25), C-2 (156.56), C-9 (156.46), C-4' (148.44), C-3' (144.77), C-3 (133.34), C-6' (121.63), C-2' (121.22), C-1' (116.31), C-5' (115,26), C-10 (104.00), C-1''' рамнозы (101,23), C-1'' глюкозы (100.77), C-6 (98.72), C-8 (93.63), C-5'' (76,49), C-3'' (75,94), C-2'' (71,89), C-4'' (70,60), C-2''' (70,44), C-6'' (66,89), C-3''' (70,05), C-4''' (74,11), C-5''' (68,27), C-6''' (CH₃ рамнозы) (17,75).</p> <p>Масс-спектр рутина (HR-ESI-MS, 180 °C, m/z): m/z 611.1607 [M+H]⁺, m/z 633.1426 [M+Na]⁺, m/z 649.1165 [M+K]⁺.</p>
4.	<p>Сирингин</p> 	<p>УФ-спектр: I_{max} в этаноле 221, 266 нм. ТСХ. R_f ~ 0.40 «Сорбфил-ПТСХ-АФ-А-УФ», хлороформ-этанол-вода (26:16:3).</p>

5.	<p>Салидрозид (4-О-β-D-глюкопиранозид 4-гидроксибензилэтанол)</p> 	<p>¹H-ЯМР-спектр (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 9.16 (1H, с, 4-ОН-группа), 7.05 (2H, д, 9 Гц, Н-2,6), 6.67 (2H, д, 9 Гц, Н-3,5), 4.95 (д, 7 Гц, Н-1' глюкозы), 3.55 (2H, т, J = 6 Гц, 2H-7), 2.72 (2H, т, 6 Гц, 2H-8), 3,0-5,0 (м, 6H глюкозы).</p> <p>¹³C-ЯМР спектр (126,76 МГц, DMSO-d₆, δC, м.д.): 156.60 (C-4), 129.75 (C-2 и C-6), 128.36 (C-1), 115.02 (C-3 и C-5), 102.84 (C-1'' глюкозы), 76.87 (C-5''), 76.79 (C-3''), 73.45 (C-8), 70.12 (C-2'), 69.90 (C-4'), 61.11 (C-6'), 34.83 (C-7).</p> <p>Масс-спектр салидрозид (HR-ESI-MS, 180 °C, m/z): m/z 301.1282 [M+H]⁺, m/z 318.1547 [M+NH₄]⁺, m/z 323.1101 [M+Na]⁺, m/z 339.0841 [M⁺K].</p>
----	--	---

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Метод тонкослойной хроматографии позволил сделать сравнительное фитохимическое исследование цветков, листьев, коры сирени обыкновенной и выявить наличие перспективных групп БАС в различных сырьевых единицах.

2. Исследование листьев различных видов сирени методом дифференциальной спектрофотометрии при применении стандартного образца рутина позволило выявить наиболее перспективные виды (сирень обыкновенная, сирень амурская, сирень мелколистная), а также виды, которые могут быть примесными.

3. Впервые проведен сравнительный анализ цветков различных форм и сортов сирени обыкновенной методом ТСХ, что позволило сделать вывод об идентичности химического состава исследуемых образцов.

4. Из цветков сирени обыкновенной впервые на территории Российской Федерации были выделены и идентифицированы актеозид и маннит. Из листьев сирени мелколистной - рутин; из коры сирени мелколистной – сирингин и сплидрозид.

5. Исследование коры веток сирени дало результат, идентичный листьям. На основании результатов, полученных в процессе исследований, можно сделать вывод о целесообразности комплексного использования лекарственного растения сирени обыкновенной, а также некоторых близкородственных видов сирени.

ГЛАВА 5. ВОПРОСЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ, РАЗРАБОТКА СОВРЕМЕННЫХ ПОДХОДОВ

На данном этапе исследования листьев и цветков сирени обыкновенной, становится очевидной необходимость введения данных видов сырья в государственную фармакопею Российской Федерации. На данный момент возникает потребность в проведении комплекса мероприятий по разработке новых методик качественного (методик микроскопического исследования, тонкослойного хроматографического анализа) и количественного определения содержания действующих веществ.

5.1. Стандартизация листьев сирени

Ранее был подтвержден факт (Глава 1) о необходимости и целесообразности разработки подходов к стандартизации листьев сирени обыкновенной, включающих в себя различные методики качественного анализа. Выбор пал на такие физико-химические методы, как ТСХ и УФ-спектрофотометрия.

Для проведения хроматографического анализа использовали извлечение из листьев сирени обыкновенной, которое анализировали в системе растворителей хлороформ-этанол-вода (26:16:3).

Хроматограмма, полученная при проведении ТСХ-анализа с целью подтверждения подлинности сырья, позволяет обнаружить зону адсорбции вещества, соответствующую рутину. Исходя из полученных данных в качестве стандартного образца был выбран рутин.

Методика приготовления извлечения для ТСХ анализа: точную навеску сырья (1 г), измельченного до размера частиц менее 1 мм, количественно переносят в колбу из термостойкого стекла со шлифом объемом 100 мл и приливают 50 мл 70% этилового спирта. Далее следует взвешивание колбы и регистрация первоначальной массы. Колбу необходимо присоединить к обратному холодильнику и нагревать на водяной бане (умеренное кипение) на протяжении 45 мин. После тщательного охлаждения, колбу необходимо вновь взвесить и

восполнить недостающий экстрагент до первоначальной массы (полученный раствор А). Далее следует фильтрование полученного раствора во флакон темного стекла и оформление этикетки.

Параметры определения подлинности листьев сирени обыкновенной данным методом представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Установление подлинности листьев сирени обыкновенной методом ТСХ

Способ детекции	Регистрация результата	Аналитический эффект
Детекция в видимом свете	Визуально	Зона адсорбции желтого цвета на уровне СО рутина, зона адсорбции желтого цвета выше зоны, характерной СО рутина.
Детекция в ультрафиолетовом свете	254 нм	2 зоны адсорбции фиолетового цвета на уровне СО сирингина и выше уровня сирингина, зона адсорбции на уровне СО рутина.
	366 нм	2 зоны адсорбции на уровне СО рутина, и выше СО рутина.
Обработка реактивами	ДСК	2 зоны адсорбции фиолетового цвета на уровне СО сирингина и выше, 2 зоны адсорбции красного цвета на уровне СО рутина и выше.
	Алюминия (III) хлорид (3% спиртовой раствор)	2 зоны адсорбции желтого цвета на уровне СО рутина и выше.

Вывод о флавоноидной природе соединений сделали на основе анализа цвета и характера свечения.

В таблице 14 представлены параметры стандартизации листьев сирени обыкновенной методом УФ-спектроскопии.

Таблица 14 – Параметры стандартизации листьев сирени обыкновенной методом УФ-спектроскопии

Метод	Дифференциальная спектрофотометрия
Экстрагент	70 % этиловый спирт
Соотношение «Сырье:экстрагент»	1:50
Время экстракции	45 мин
Степень измельчения сырья	1 мм
Масса навески	1 г
Метод экстракции	Однократная спирто-водная экстракция на водяной бане (умеренное кипение) с присоединением обратного холодильника
Фильтрование	Бумажный фильтр «Красная полоса»
Раствор А	Готовое отфильтрованное извлечение из сырья
Раствор Б	1 мл извлечения, смешанный с 1 мл 3% $AlCl_3$ в мерной колбе на 25 мл, доведенный до метки 96% этиловым спиртом.
Измеряемая величина	Оптическая плотность
Длина волны, при которой наблюдаются максимумы поглощения	Коротковолновый с длиной волны 280 ± 2 нм, длинноволновый с 336 ± 2 нм, после обработки $AlCl_3$ длинноволновый максимум 412 ± 2 нм
Раствор стандарта	Раствор СО рутин (20 мг на 50 мл 70% этанола)

Электронные спектры испытуемых растворов демонстрируют 2 максимума поглощения. Коротковолновый максимум проявляется при длине волны 280 ± 2 нм. Длинноволновый максимум обнаруживается при 336 ± 2 нм. Батохромный сдвиг, который возникает в результате химических превращений флавоноидов, связанных с добавлением в раствор испытуемого вещества спиртового раствора алюминия хлорида (III) (рис. 27), аналогичный аналитический эффект наблюдается также в результате химической реакции спиртового раствора алюминия хлорида (III) с СО рутинном (рис. 28). На рисунке 29 представлен дифференциальный вариант.

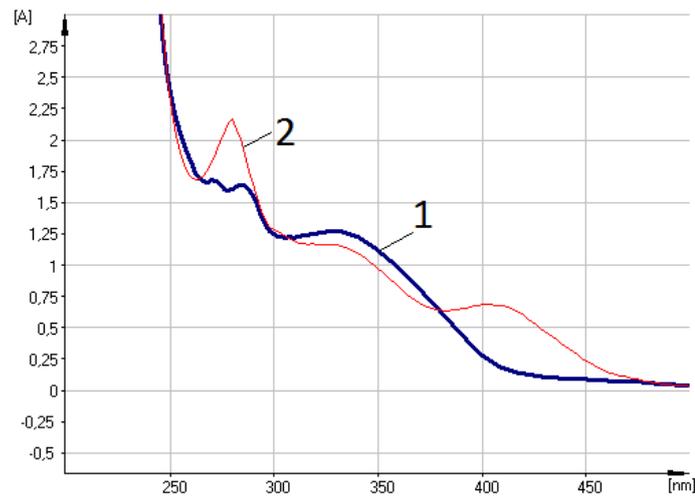


Рисунок 27 - Электронный спектр спирто-водного извлечения из листьев сирени обыкновенной: 1-исходное извлечение; 2 – извлечение с добавлением $AlCl_3$

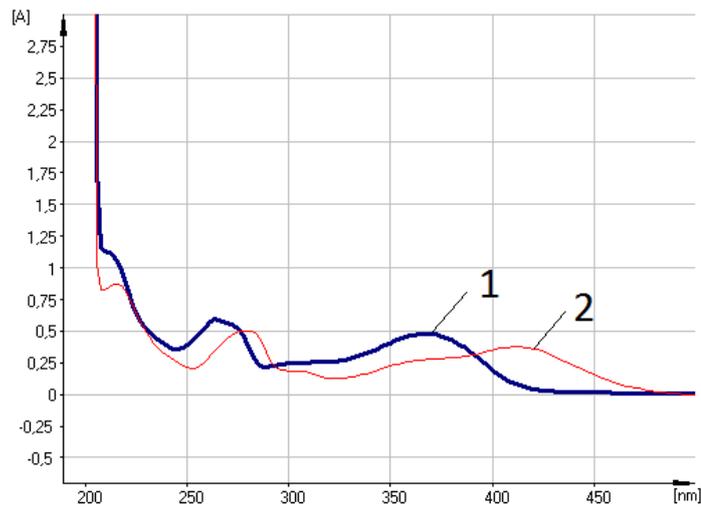


Рисунок 28 - Электронный спектр раствора СО рутина: 1 – исходный раствор; 2 – раствор с добавлением $AlCl_3$

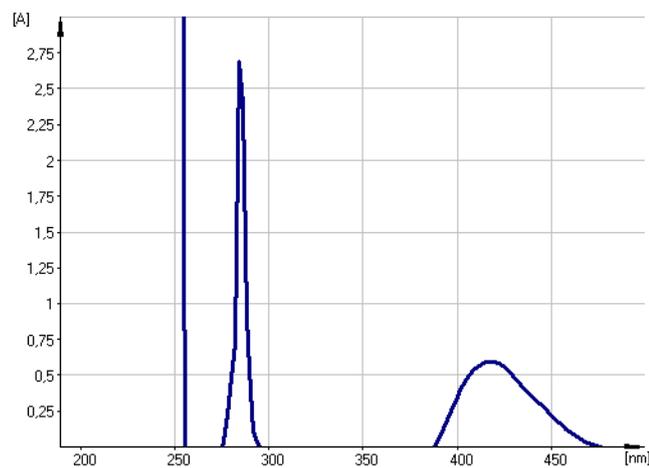


Рисунок 29 - Электронный спектр извлечения из листьев сирени
обыкновенной (дифференциальный вариант)

В таблице 15 обоснован выбор оптимальных условий, которые нашли отражение в разработанной методике.

Таблица 15 – Подбор оптимальных условий экстракции флавоноидов

№ п/п	Экстрагент	Соотноше ние сырье: экстрагент	Время экстракции, мин	Степень измель- чения, мм	Содержание суммы флавоно- идов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье (в %)
Концентрация экстрагента					
1	40% этиловый спирт	1:30	60 мин	2	2,65±0,16
2	60% этиловый спирт	1:30	60 мин	2	3,10±0,19
3	70% этиловый	1:30	60 мин	2	3,36±0,21

4	80% этиловый спирт	1:30	60 мин	2	3,27±0,20
5	90% этиловый спирт	1:30	60 мин	2	3,01±0,18
Время экстракции					
6	70% этиловый спирт	1:30	30 мин	2	2,64±0,16
7	70% этиловый спирт	1:30	45 мин	2	3,63±0,22
8	70% этиловый спирт	1:30	90 мин	2	3,11±0,19
9	70% этиловый спирт	1:30	120 мин	2	3,04±0,19
Соотношение «сырье-экстрагент»					
10	70% этиловый спирт	1:30	45 мин	2	3,26±0,20
11	70% этиловый спирт	1:20	45 мин	2	2,78±0,17
12	70% этиловый спирт	1:50	45 мин	2	3,38±0,21
Степень измельчения					
13	70% этиловый спирт	1:50	45 мин	1	3,31±0,20
14	70% этиловый спирт	1:50	45 мин	2	2,79±0,17
15	70% этиловый спирт	1:50	45 мин	3	2,41±0,15

Расчет содержания суммы флавоноидов проводится в абсолютно сухом сырье.

Формула для расчета содержания суммы флавоноидов (в % (x)) в пересчете на рутин выглядит следующим образом :

$$x = \frac{D * m_0 * 50 * 25 * 1 * 100 * 100}{D_0 * m * 50 * 25 * (100 - W)} \quad (1)$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора ГСО рутин;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса ГСО рутин, г;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

При отсутствии стандартного образца рутин рассчитываем так.

Формула для расчета содержания суммы флавоноидов:

$$x = \frac{D * 50 * 25 * 100}{m * 240 * (100 - W)} \quad (2)$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса ГСО рутин, г;

240 – удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) ГСО рутин при 412

нм;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

Результаты статистической обработки данных показаны в таблице 16.

Погрешность единичного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной составляет $\pm 6,12$ %, доверительная вероятность- 95%.

Таблица 16 – Метрологические характеристики методики

f	\bar{x}	S	$P, \%$	$t(P, f)$	$\pm X$	$E, \%$
15	3,05	0,3367	95	2,13	$\pm 0,19$	$\pm 6,12$

Валидационная оценка разработанной методики проводилась в соответствии с требованиями актуальной нормативной документации [14-17].

Разработанная методика также проходила валидацию на различных образцах сырья (табл. 17). Результаты, полученные при установлении содержания суммы флавоноидов, удовлетворяют требованиям и варьируют от 2,76 до 3,89 %. В качестве нижнего предела содержания флавоноидов в листьях сирени обыкновенной было решено установить порог в 2,5 %.

Таблица 17 – Результаты определения суммы флавоноидов в сырье разных локаций и сроков сбора

№ 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 ± 0,23
2	г. Уральск (октябрь 2016 г.)	2,94 ± 0,18
3	Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2016 г.)	3,89 ± 0,24
4	г. Тольятти (май 2018 г.)	2,76 ± 0,17
5	Пензенская обл., Никольский р-н (май 2019 г.)	3,12 ± 0,19

Результаты исследований могут быть включены в проект фармакопейной статьи «Сирени обыкновенной листья».

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

На хроматограмме, полученной методом ТСХ в системе, подходящей для хроматографирования гликозидных соединений, обнаруживаются зоны адсорбции, соответствующие хлорогеновой кислоте и актеозиду.

Методика приготовления извлечения для ТСХ анализа: анаточную навеску сырья (1,0 г), с размером частиц не более 1 мм, отвешивают в колбу со шлифом объемом 250 мл и приливают 100 мл этанола 60%, после чего колбу подвергают взвешиванию. Обратный холодильник присоединяют к колбе и греют на водяной бане (умеренное кипение) на протяжении 30 мин. После чего происходит охлаждение колбы, повторное взвешивание и восполнение недостающего экстрагента до первоначальной зарегистрированной массы (полученный раствор А). Затем следует фильтрация полученного раствора во флакон темного стекла и оформление этикетки.

Параметры определения подлинности цветков сирени обыкновенной данным методом представлены в таблице 18.

Таблица 18 – установление подлинности цветков сирени обыкновенной методом ТСХ

Детекция в видимом свете	Визуально	Зона адсорбции на уровне СО актеозида.
Детекция в ультрафиолетовом свете	254 нм	2 зоны адсорбции фиолетового цвета на уровне СО актеозида и СО хлорогеновой кислоты.
	366 нм	2 зоны адсорбции голубого свечения на уровне СО актеозида и СО хлорогеновой кислоты.
Обработка реактивами	ДСК	2 зоны адсорбции фиолетового цвета на уровне СО актеозида и СО хлорогеновой кислоты.

Вывод о фенилпропаноидной природе соединений сделали на основе анализа цвета и характера свечения. Эти результаты можно использовать при определении подлинности цветков сирени обыкновенной.

В таблице 19 представлены параметры стандартизации цветков сирени обыкновенной методом УФ-спектроскопии.

Таблица 19 – Параметры стандартизации цветков сирени обыкновенной методом УФ-спектроскопии

Метод	Прямая спектрофотометрия
Экстрагент	60 % этиловый спирт
Соотношение «Сырье:экстрагент»	1:100
Время экстракции	30 мин
Степень измельчения сырья	1 мм
Масса навески	1 г
Метод экстракции	Однократная спирто-водная экстракция на водяной бане (умеренное кипение) с присоединением обратного холодильника
Фильтрование	Бумажный фильтр «Красная полоса»
Раствор А	Готовое отфильтрованное извлечение из сырья, разбавленное 1:25.
Измеряемая величина	Оптическая плотность
Длина волны, при которой наблюдаются максимумы поглощения	Коротковолновый с длиной волны 280 ± 2 нм, длинноволновый с 330 ± 2 нм (аналитический)
Раствор стандарта	Раствор СО хлорогеновой кислоты (20 мг на 50 мл 70% этанола)

Для получения электронных спектров используем спектрофотометр.

Максимум поглощения испытуемый раствор А дает при длине волны 330 ± 2 нм (рис. 30).

Аналогично раствор СО хлорогеновой кислоты (рис. 31).

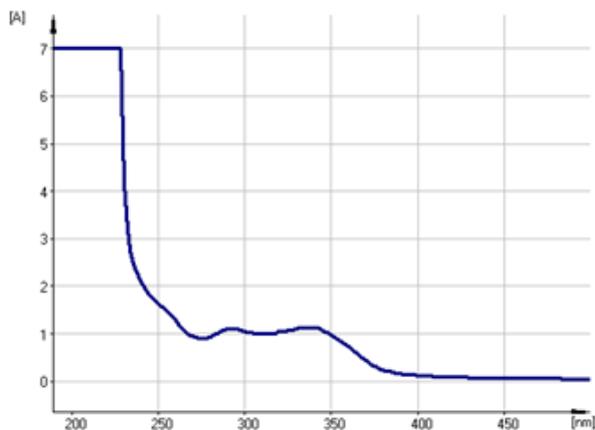


Рисунок 30 - Электронный спектр водно-спиртового извлечения из цветков сирени обыкновенной.



Рисунок 31 - Электронный спектр раствора СО хлорогеновой кислоты.

По результатам ТСХ и спектрофотометрии хлорогеновая кислота может быть использована в качестве вещества-стандарта.

В методике количественного определения суммы фенилпропаноидов в пересчете на СО хлорогеновую кислоту (прямая спектрофотометрия) также проведен поиск оптимальных условий экстракции целевых веществ цветков сирени обыкновенной (табл. 20).

Таблица 20 – Зависимость полноты извлечения суммы фенилпропаноидов

№ п/п	Экстрагент	Соотношение сырья: экстрагент	Время экстракции, мин	Степень измельчения, мм	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье (в %)
Концентрация экстрагента					
1	60% этиловый	1:50	60 мин	1	5,97±0,11

	спирт				
2	70% этиловый спирт	1:50	60 мин	1	5,58±0,11
3	80% этиловый спирт	1:50	60 мин	1	4,71±0,09
Время экстракции					
4	60% этиловый спирт	1:50	30 мин	1	5,74±0,11
5	60% этиловый спирт	1:50	45 мин	1	5,99±0,11
6	60% этиловый спирт	1:50	60 мин	1	5,97±0,11
7	60% этиловый спирт	1:50	90 мин	1	5,58±0,11
Соотношение «Сырье-экстрагент»					
8	60% этиловый спирт	1:30	45 мин	1	5,93±0,11
9	60% этиловый спирт	1:50	45 мин	1	5,98±0,11
10	60% этиловый спирт	1:100	45 мин	1	6,19±0,12
Степень измельчения сырья					
11	60% этиловый спирт	1:50	45 мин	1	5,98±0,11
12	60% этиловый спирт	1:50	45 мин	2	5,78±0,11

Формула расчета процентного содержания суммы фенилпропаноидов в пересчете на хлорогеновую кислоту по формуле:

$$x = \frac{A * m_0 * 100 * 25 * 1 * 100 * 100}{A_0 * m * 50 * 100 * (100 - W)} \quad (3)$$

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.

Формула с теоретическим значением удельного показателя поглощения хлорогеновой кислоты, равным 497.

$$x = \frac{A * 100 * 50 * 100}{m * 497 * (100 - W)} \quad (4)$$

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.

Далее проведена статистическая обработка данных. В таблице 21 представлены основные метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной.

Таблица 21- метрологическая характеристика методики

f	\bar{x}	S	$P, \%$	$t(P, f)$	$\pm X$	$E, \%$
12	5,85	0,16	95	2,3	$\pm 0,11$	$\pm 1,89$

Для единичного определения суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной определена допустимая ошибка с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 1,89\%$.

Валидационная оценка методики проведена в соответствии с требованиями современной нормативной документации [14-17].

Был проанализирован ряд образцов цветков сирени обыкновенной с использованием разработанной методики (табл. 22). Содержание суммы фенилпропаноидов определено и варьирует от 5,58 % до 6,19 %, что обосновывает рекомендацию содержания не менее 5,0% в качестве нижнего предела для данного вида сырья.

Таблица 22 – Исследование образцов цветков сирени обыкновенной по локациям и срокам сбора

№ 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.	г. Тольятти (май 2018 г.)	5,54±0,11
5.	Пензенская обл., Никольский р-н (май 2019 г.)	5,95±0,11

Целесообразность метода подтверждена результатами проведенных исследований, и может быть рекомендована для стандартизации данного вида сырья.

5.3. Переосмысление методик анализа коры сирени обыкновенной

Методом ТСХ в присутствии раствора стандартного образца синрингина подтверждено его наличие в исследуемых образцах (водно-спиртовые извлечения из коры изучаемых видов сирени и настойка из коры сирени).

В обоих видах сырья при наблюдении в УФ-свете- длине волны 254 нм синрингина наблюдается пятно фиолетового цвета с R_f около 0,5 на уровне пятна стандартного образца (рис. 32).

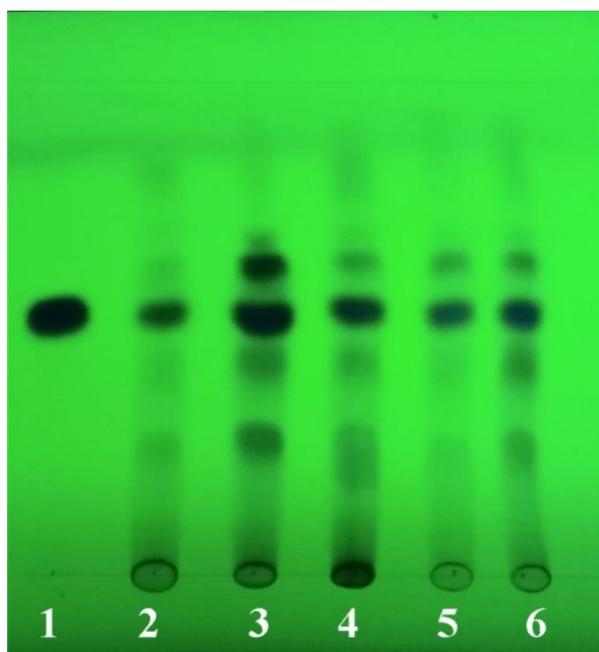


Рисунок 32 - ТСХ-хроматограмма синингина, водно-спиртовых извлечений коры сирени обыкновенной и экспериментального препарата «Сирени коры настойка»

Обозначения: 1 – синингин; 2 – экспериментальный препарат «Сирени коры настойка»; 3 – водно-спиртовое извлечение из коры сирени обыкновенной (с. Натальино, Саратовская область, май 2018 г.); 4 – водно-спиртовое извлечение из коры сирени обыкновенной (с. В. Сускан, Самарская область, май 2020 г.); 5 – водно-спиртовое извлечение из коры сирени обыкновенной (с. Ермаково, Самарская область, май 2020 г.), 6 – водно-спиртовое извлечение из коры сирени обыкновенной (Ботанический сад Самарского университета, май 2020 г.)

Определено, что в условиях ВЭЖХ-анализа время удерживания пика синингина на хроматограммах стандартного образца синингина и водно-спиртового извлечения из коры сирени обыкновенной составило $4,046 \pm 0,070$ мин и $4,092 \pm 0,082$ мин соответственно (рис. 33).

На хроматограмме обнаруживается увеличение интенсивности пика синингина по сравнению с интенсивностью соответствующего пика в исходном испытуемом растворе, происходящее при добавлении раствора синингина в извлечение (рис. 34).

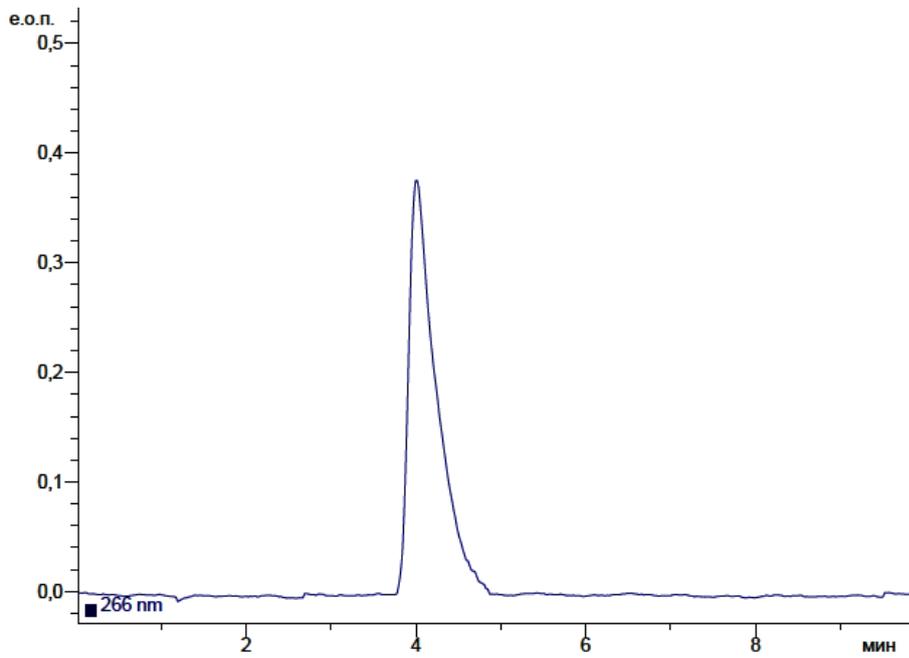


Рисунок 33 - ВЭЖХ-хроматограмма раствора стандартного образца сирингина

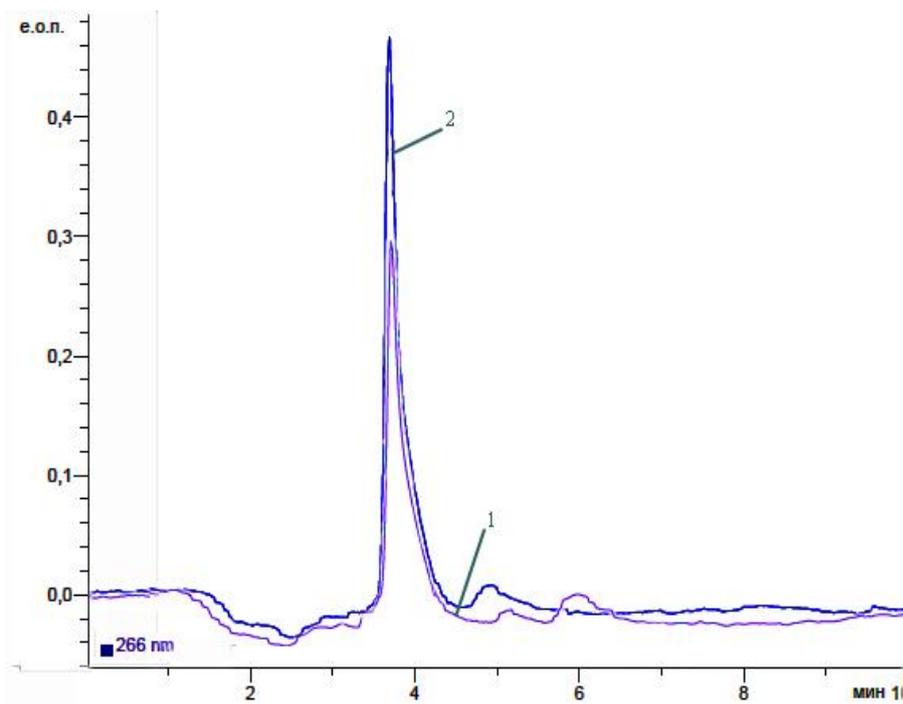


Рисунок 34 - ВЭЖХ-хроматограмма исходного водно-спиртового извлечения из коры сирени обыкновенной -1; после добавления раствора стандартного образца сирингина – 2.

Было проведено 5 кратное хроматографирование 1 мкл раствора для проверки пригодности хроматографической системы, после чего были рассчитаны основные показатели пригодности хроматографической колонки (табл. 23).

Таблица 23 - Определение пригодности хроматографической колонки

Параметр хроматографической колонки	Формула расчета	Значение	Нормативный показатель
Эффективность колонки	$N = \frac{5,54 \cdot RT^2}{W_{0,5}^2}$, где RT - время удерживания пика; $W_{0,5}$ - ширина пика на 0,5 высоты	5028	Не менее 5000 теоретических тарелок
Разрешение между пиками	$R_s = \frac{2 \cdot (t_{R2} - t_{R1})}{(W_2 + W_1)}$, где t_{R1}, t_{R2} - времена удерживания, W_1, W_2 - ширина пиков образцов при основании	1,7	Не менее 1,5
Фактор асимметрии	$T = \frac{W_{0,05}}{2a}$, где $W_{0,05}$ - ширина пика на высоте 5%; a - расстояние от фронта пика до высоты, измеренное на высоте 5% от основания	1,45	Не более 1,5
Прецизионность системы в условиях повторяемости	$RSD = \frac{100}{\bar{X}} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$	1,5 %	Не более 2 %

Поведен анализ зависимости выхода сирингина из образцов коры сирени обыкновенной (табл. 24).

Таблица 24 – Зависимость полноты извлечения сиренгина

№ п/п	Параметр экстракции	Соотношение сырье:экстрагент	Время экстракции, мин	Содержание сиренгина (в %)
Концентрация экстрагента				
1.	40% этанол	1:30	60 мин	4,86±0,20
2.	60% этанол	1:30	60 мин	4,94±0,15
3.	70% этанол	1:30	60 мин	5,37±0,17
4.	80% этанол	1:30	60 мин	2,63±0,15
5.	95% этанол	1:30	60 мин	2,55±0,11
Время экстракции				
6.	70% этанол	1:30	30 мин	5,10±0,15
7.	70% этанол	1:30	60 мин	5,36±0,17
8.	70% этанол	1:30	90 мин	5,41±0,13
Соотношение «сырье:экстрагент»				
9.	70% этанол	1:30	60 мин	5,38±0,16
10.	70% этанол	1:50	60 мин	5,42±0,19
11.	70% этанол	1:100	60 мин	5,42±0,18

Условия проподготовки сырья, а также основные параметры хроматографирования представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Параметры стандартизации коры сирени обыкновенной методом ВЭЖХ

Метод	ВЭЖХ (обращенно-фазовый режим, изократические условия)
Условия хроматографирования	Стальная колонка «КАХ-6-80-4» (№2; 2 мм х 80 мм; Сепарон-С18 5 мкм), подвижная фаза – ацетонитрил: 1% раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 15:85, скорость элюирования - 100 мкл/мин, объем элюента - 1500 мкл.
Соотношение «Сырье: экстрагент»	1:30
Время экстракции	60 мин
Степень измельчения сырья	1 мм
Масса навески	1 г
Метод экстракции	Однократная спиртоводная экстракция на водяной бане (умеренное кипение) с присоединением обратного холодильника
Фильтрование	Бумажный фильтр «Красная полоса»
Раствор А	Готовое отфильтрованное извлечение из сырья, разбавленное 1:5.
Объем вводимой в колонку пробы	1 мкл
Измеряемая величина	Высота хроматографического пика
Длина волны, при которой проводится измерение	266 нм
Время выхода исследуемого вещества	4 мин
Раствор стандарта	Раствор СО сирингина (25 мг на 50 мл 96% этанола)

Результаты хроматографирования доказывают пригодность данной методики. Система может быть использована для количественного определения сирингина в коре сирени обыкновенной.

Формула расчета процентного содержания сирингина в коре сирени обыкновенной в пересчете на абсолютно сухое сырье:

$$X = \frac{H \cdot m_0 \cdot V \cdot V_2 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 0,95}{H_0 \cdot m \cdot V_0 \cdot V_1 \cdot (100 - W)} \quad (5)$$

где H – среднее значение высоты пика сирингина, вычисленное из хроматограмм раствора испытуемого образца;

где \bar{H} – среднее значение высоты пика сирингина, вычисленное из хроматограмм раствора испытуемого образца;

H_0 – среднее значение высоты пика сирингина, вычисленное из хроматограмм раствора стандартного образца сирингина;

V – объем извлечения, мл;

V_1 – объем вводимой пробы раствора испытуемого образца, мкл;

V_0 – объем раствора стандартного образца сирингина, мл,

V_2 – объем вводимой пробы раствора стандартного образца сирингина, мкл;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса стандартного образца, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, в процентах;

0,95 – коэффициент пересчета сирингина на безводное вещество.

Валидационная оценка проводилась в соответствии с требованиями актуальной нормативной документации. Метрологические характеристики методики представлены в таблице 26.

Таблица 26 - Метрологические характеристики методики

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

С использованием данной методики был проанализирован ряд образцов коры сирени обыкновенной (табл. 27). Содержание сирингина варьировало от 2,55% до 5,38%.

Исследуемые образцы, для получения наиболее точной картины воспроизводимости методики, были собраны из различных областей Российской Федерации, из различных мест произрастания, характеризующихся

отличающимися составами почвы, водного питания, освещенности и даже среднегодовых температур. Данный подход отвечает всем требованиям проведения валидационной проверки, помогает выявить все преимущества и недостатки разработанной методики.

Таблица 27 - Содержание сирингина в образцах коры сирени обыкновенной разных локаций и сроков сбора

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

Данная методика была применена для определения содержания сирингина в образцах экспериментального препарата «Сирени настойка» [9, 24]. Ранее в ходе исследований фармакологической активности на крысах выявлено, что настойка из коры сирени обыкновенной и доминирующее биологически активное соединение настойки сирингина имеют тонизирующий, актопротекторный, анксиолитический, антидепрессивный эффект. Они также повышают обучаемость и функции краткосрочной памяти [44].

Перспективность создания препаратов из коры сирени обыкновенной подчеркивает тот факт, что сирингин вносит вклад в активность лекарственных

препаратов элеутерококка колючего, уже разрешенных к применению в традиционной медицине.

Пробоподготовка заключалась в разведении 2 мл настойки в мерной колбе вместимостью 25 мл 40% этиловым спиртом до метки. 1 мкл полученного раствора инжестировали в хроматограф и анализировали в тех же условиях, что и водно-спиртовые извлечения из коры сирени. ВЭЖХ-хроматограмма настойки из коры сирени представлена на рисунке 35.

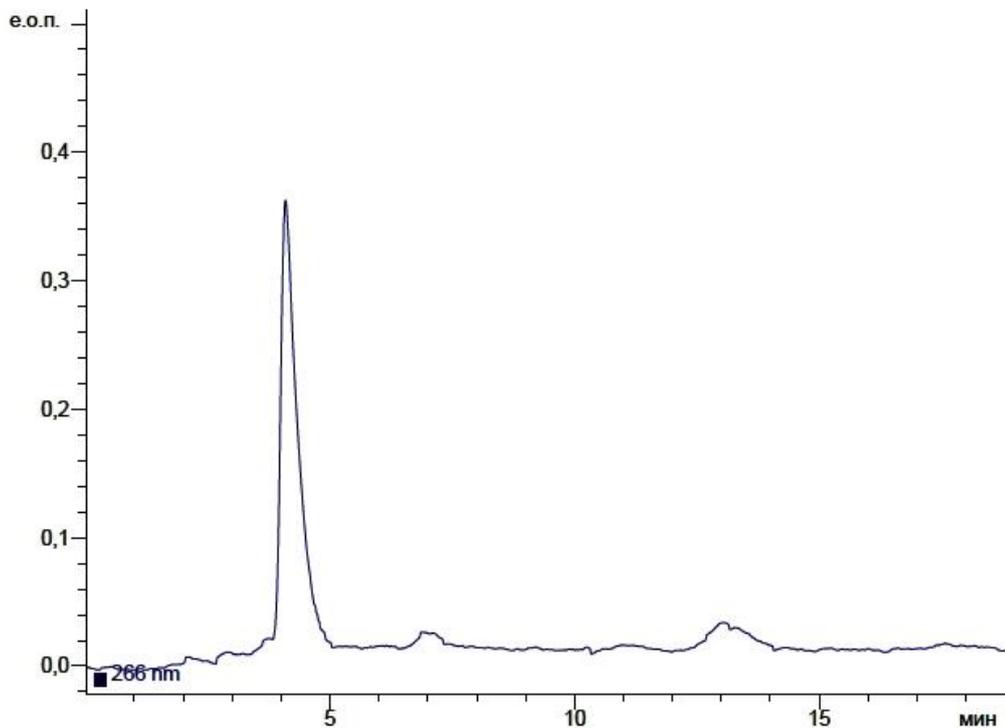


Рисунок 35 - ВЭЖХ-хроматограмма экспериментального препарата «Сирени коры настойка» (экстрагент 40% этанол, соотношение «сырье:экстрагент»1:5)

Содержание синрингина в образцах настойки составляло $0,45 \pm 0,03$ %. Ошибка единичного определения содержания синрингина в настойке сирени обыкновенной с доверительной вероятностью 95 % составляет $\pm 5,0$ %, о чем свидетельствуют метрологические характеристики методики (табл. 28).

Данное исследование показывает целесообразность выбора лекарственной формы с целями извлечения и последующего высвобождения действующих веществ коры сирени обыкновенной в виде настойки на 40% этаноле.

Таблица 28 –Метрологические характеристики методики

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

Таким образом, результаты проведенных исследований показали удовлетворительные метрологические характеристики ВЭЖХ-методики определения количественного содержания сирингина для стандартизации сырья и возможных препаратов сирени обыкновенной.

5.4 Исследование общих показателей качества лекарственного растительного сырья «Сирени обыкновенной листья»

Определение числовых показателей качества является неотъемлемой частью работы по разработке проекта нормативной документации для внедрения на фармацевтический рынок новых видов ЛРС.

С целью введения листьев сирени обыкновенной в ГФ и в соответствии с методиками ГФ РФ XIV издания необходимо контролировать такие параметры, как влажность, содержание действующих веществ, содержание золы общей и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, измельченность и содержание приесей [14, 15, 16, 17, 22, 23].

В таблице 29 обоснованы общие показатели качества, обусловленные результатами проведенных исследований.

Было изучено 7 образцов сырья, заложенных на хранение, в период 3,5 лет.

Таблица 29 - Результаты определения числовых показателей измельченного и цельного сырья листьев сирени обыкновенной

Испытания	Содержание для цельного сырья	Содержание для измельченного сырья
Влажность	От 10,16 до 11,98%	От 10,40 до 11,56%
Зола общая	От 4,3 до 4,86%	От 4,46 до 4,9%
Зола, нерастворимая в хлороводородной кислоте	От 1,23 до 2,88%	От 1,33 до 2,88%
Измельченность сырья		
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм	От 2,28 до 4,92%	-
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 5 мм	-	От 3,11 до 4,8%
Посторонние примеси		
Другие части растения (ветки, части соцветий)	От 2,14 до 4,82%	От 2,36 до 4,52%
Сырье, изменившее окраску (потемневшее или почерневшее)	От 2,06 до 4,72%	От 2,16 до 4,91%
Органические примеси	От 0,04 до 0,49%	От 0,02 до 0,48%
Минеральные примеси	От 0,03 до 0,46%	От 0,06 до 0,48%
Количественное определение		
Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин	От 2,07 до 2,96%	От 2,76 до 3,89 %

Органические примеси	От 0,04 до 0,49%	От 0,02 до 0,48%
Минеральные примеси	От 0,03 до 0,46%	От 0,06 до 0,48%
Количественное определение		
Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин	От 2,07 до 2,96%	От 2,76 до 3,89 %
Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых 70 % этиловым спиртом	От 11,37 до 13,42%	От 11,59 до 13,71%

В результате исследования листьев сирени обыкновенной были получены числовые показатели (табл. 30). Они нашли отражение в проекте нормативной документации.

Таблица 30 – Итоговые числовые показатели качества листьев сирени обыкновенной

Испытания	Содержание для цельного сырья	Содержание для измельченного сырья
Влажность	Не более 12%	Не более 12%
Зола общая	Не более 5%	Не более 5%
Зола, нерастворимая в хлороводородной кислоте	Не более 3%	Не более 3%
Измельченность сырья		
Частиц, проходящих сквозь сито с отвер-	Не более 5%	-

стями размером 3 мм		-
Частиц, проходящих сквозь сито с отвер- ствиями диаметром 5 мм	-	Не более 5%
Частиц, проходящих сквозь сито с отвер- ствиями, размером 1 мм	-	Не более 5%
Посторонние примеси		
Другие части растения (ветки, части соцветий)	Не более 5%	Не более 5%
Сырье, изменившее ок- раску (потемневшее или почерневшее)	Не более 5%	Не более 5%
Органические примеси	Не более 0,5%	Не более 0,5%
Минеральные примеси	Не более 0,5%	Не более 0,5%
Количественное определение		
Содержание суммы флавоноидов в пересче- те на <u>рутин</u>	Не менее 2,5%	Не менее 2,5%
Содержание экстрак- тивных веществ, извле- каемых 70 % этиловым спиртом	Не менее 11%	Не менее 11%

Рекомендован срок годности для листьев сирени обыкновенной - 3 года.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Качественный анализ сырья сирени обыкновенной целесообразнее все-го проводить методом тонкослойной хроматографии. Мы рекомендуем: при анализе листьев сирени обыкновенной в качестве вещества-стандарта: СО ру-тин, при анализе цветков: актеозид и сирингин.

2. Оптимальным методом количественного анализа суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной является дифференциальная спектрофотометрия при длине волны 412 ± 2 нм с пересчетом на рутины. От 2,76 до 3,89 % варьирует содержание суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной, что позволяет в качестве нижнего предела рекомендовать для сырья данного растения не менее 2,5 % по содержанию суммы флавоноидов. С доверительной вероятностью 95% ошибка единичного определения составляет $\pm 6,12$ %.

4. Методом прямой спектрофотометрии эффективнее всего проводить количественное определение суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной при длине волны 330 нм с применением СО хлорогеновой кислоты. От 5,58 % до 6,19 % варьирует содержание суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной. В связи с этим в качестве нижнего порога было выбрано значение в 5,0% по содержанию суммы фенилпропаноидов. С доверительной вероятностью 95% ошибка единичного определения составляет $\pm 1,89$ %.

5. С использованием метода ВЭЖХ нами была обновлена методика количественного определения сирингина в коре сирени обыкновенной. От 0,82 % до 1,20 % варьирует содержание сирингина в коре сирени обыкновенной. С доверительной вероятностью 95 % ошибка единичного определения сирингина в коре сирени обыкновенной составляет $\pm 3,20$ %.

6. Для проекта нормативной документации на новый вид ЛРС «Сирени обыкновенной листья» определены основные числовые показатели.

7. В проект ФС на новый вид ЛРС - «Сирени обыкновенной листья» включены разработанные методики стандартизации.

ГЛАВА 6. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Листья и цветки сирени обыкновенной являются главными претендентами на фармакогностическое обоснование применения химического состава, исследование фармакологической активности и внедрение в Государственную Фармакопею Российской Федерации.

Листья сирени обыкновенной содержат разнообразные группы БАС, доминирующей среди которых являются флавоноиды, из них преобладает рутин. Кроме флавоноидов листья сирени обыкновенной содержат маннит. Флавоноиды оказывают самые разнообразные фармакологические эффекты на организм человека. Лекарственные растения, содержащие флавоноиды в своем составе, оказывают желчегонное, противовоспалительное, диуретическое, нейротропное и многие другие эффекты воздействия на организм [12, 49, 56].

В то же время научный интерес с фармакологической точки зрения представляют и цветки сирени обыкновенной, основной группой БАС которых являются фенилпропаноиды. В свою очередь фенилпропаноиды способны оказывать иммуностропное, антидепрессивное или даже гепатопротекторное действие.

6.1. Фармакологическое исследование диуретической активности густых экстрактов цветков сирени обыкновенной и густого экстракта листьев сирени обыкновенной

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). Водообеспечение животных не ограничивалось.

Диуретическую активность сухого экстракта листьев сирени обыкновенной (экстрагент 40% этиловый спирт), а также густого экстракта цветков сирени обыкновенной (экстрагент 60% этиловый спирт) в дозах по 10 мг/кг определяли в хроническом эксперименте (таблицы 29-31)[42].

Далее достоверность отличий данных опытной группы и контрольной группы:

* - $p < 0,05$,

** - $p < 0,01$,

*** - $p < 0,001$.

Таблица 31 – Группа 1. Влияние внутрижелудочного введения растительных лекарственных препаратов и БАВ на экскреторную функцию почек интактных крыс ($M \pm m$, $n = 10$).

Время, ч	Показатели	Контроль Вода	Опыт 1 ГЭ цветков сирени, 10 мг/кг	Опыт 2 СЭ листьев сирени, 10 мг/кг
4	Диурез, мл	2,02±0,08	2,42±0,14 *	2,19±0,14
	О/К	-	$p=0,027$	$p=0,303$
	Экскреция креатинина, мг	0,09±0,01	0,11±0,01	0,07±0,01
	О/К	-	$p=0,302$	$p=0,181$
24	Диурез, мл	2,12±0,25	1,75±0,22	1,31±0,28 *
	О/К	-	$p=0,179$	$p=0,031$
	Экскреция креатинина, мг	2,80±0,19	3,46±0,22 *	3,08±0,15
	О/К	-	$p=0,039$	$p=0,255$

Таблица 32 – Группа 2. Влияние внутрижелудочного введения растительных лекарственных препаратов и БАВ на экскреторную функцию почек интактных крыс ($M \pm m$, $n = 10$)

Время, ч	Показатели	Контроль Вода	Опыт 1 ГЭ цветков сирени, 10 мг/кг	Опыт 2 СЭ листьев сирени, 10 мг/кг
4	Диурез, %	100%	120% *	108%
	О/К	-	$p=0,027$	$p=0,303$
	Экскреция Креатинина, %	100%	122%	78%
	О/К	-	$p=0,302$	$p=0,181$
24	Диурез, %	100%	78%	58% *
	О/К	-	$p=0,179$	$p=0,031$
	Экскреция Креатинина, %	100%	124% *	110%
	О/К	-	$p=0,039$	$p=0,255$

Таблица 33 – Группа 3. Влияние внутрижелудочного введения растительных лекарственных препаратов и БАВ на экскреторную функцию почек интактных крыс (Med [Min; Max], $n = 10$)

Время, ч	Показатели	Контроль Вода	Опыт 1 ГЭ цветков сирени, 10 мг/кг	Опыт 2 СЭ листьев сирени, 10 мг/кг
4	Диурез, мл	2,07 [1,63; 2,25]	2,28 [2,10; 3,17] *	2,19 [1,72; 2,69]
	О/К	-	$p=0,027$	$p=0,303$
	Экскреция креатинина, мг	0,09 [0,06; 0,12]	0,12 [0,03; 0,14]	0,06 [0,02; 0,12]
	О/К	-	$p=0,302$	$p=0,181$

24	Диурез, мл	2,58 [2,28; 3,70]	3,13 [2,92; 4,33]	3,02 [2,65; 3,86] *
	О/К	-	p=0,179	p=0,031
	Экскреция креатинина, мг	2,24 [1,29; 3,02]	1,54 [1,15; 2,60] *	1,31 [0,31; 2,53]
	О/К	-	p=0,039	p=0,255

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 креатининурина (на 24%). Условия проведения эксперимента аналогичные.

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

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. В результате исследования выявлено, что при однократном внутрижелудочном введении в дозе 10 мг/кг густого экстракта цветков сирени на фоне 3% водной нагрузки в течение 4-х ч у крыс опытной группы доказанно возрастал диурез относительно показателей водного контроля, а также отмечалось достоверное возрастание креатининурина к концу 24-х ч эксперимента.

2. Экспериментальным путем установлено однократное внутрижелудочное введение сухого экстракта листьев сирени в дозе 10 мг/кг на фоне 3% водной нагрузки эксперименте у животных опытной группы относительно показателей водного контроля способствует достоверному снижению диуреза к концу 24-х ч эксперимента.

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-кофеоил)-3,4-дигидроксифенилэтанола) и маннит. Из листьев сирени мелколистной выделен рутин (кверцетин-3-О-(6''-α-Лрамнопиранозил)-β-D-глюкопиранозид). Из коры сирени мелколистной впер-

вые 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 ±6,12%. Также в результате исследований была разработана и зарегистрирована методика количественного опре-

деления 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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова, Ж.Н. Человек и противоокислительные вещества / Ж.Н. Абрамова, Г.И. Оксегендлер. – М.: Медицина. - 1985. – 230 с.
2. Азнагулова А.В. Фармакогностическое исследование одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.): автореф. дис. канд. фарм. наук: 14.04.02 / А.В. Азнагулова. – Самара, 2016. – 23 с.
3. Атлас по описательной морфологии высших растений / А.А. Федоров, З.Т. Артюшенко – Л.: Наука, 1979. – 295 с.
4. Беликов, В.В. Применение ВЭЖХ в анализе флавоноидных препаратов / В.В. Беликов // Проблемы стандартизации и контроля качества лекарственных средств: Мат. докл. всесоюз. конф., 18-21 декабря 1991. – М., 1991. – Т. 2, ч. 1 – С. 14-16.
5. Бобожонов, А.А.У., Короматов И.Д. Лекарственное растение сирень обыкновенная / А.А.У. Бобожонов, И.Д. Короматов. // Биология и интегративная медицина. – 2017. - №6. – С.48-53.
6. Бунятян, Н.Д. Природные антиоксиданты – как гепатопротекторы / Н.Д. Бунятян, О.А. Герасимова, Т.С. Сахарова и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1999. – Т. 62, №2. – С 64-67.
7. Ванин, А.И. Определитель деревьев и кустарников / А.И. Ванин. - М.: Лесная промышленность, 1967. - С. 220-224.
8. Вехов, Н.К. Сирени / Н.К. Вехов. – М. : М-во коммун. хоз-ва РСФСР, 1953. – 152 с.
9. Гаврилов, А.С. Фармацевтическая технология. Изготовление лекарственных препаратов / А.С. Гаврилов. – М.: Гэотар-Медиа, 2010. – 624 с.
10. Галушкина, Л.Р. Влияние суммы элеутерозидов, фенольной и полисахаридной фракции элеутерококка на адаптацию и резистентность центральной нервной системы при ишемии / Л.Р. Галушкина, М.А. Джумаев, А.Н. Кудрин // Фармация. – 1990. – Т. 39, №2. – С.59-63.

11. Гаркави, Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма. / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова - 3-е изд. – Ростов, 1990.
12. Георгиевский. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комиссаренко, С.Е. Дмитрук – Новосибирск: «Наука», сибирское отделение, 1990. – 333с.
13. Горб, В.К. Сирени на Украине. – Киев: Наук. Думка, 1989. – 158с.
14. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Т.1 / Москва, 2018. – 1814 с. [Электронный ресурс] / URL: - 15.08.2020
15. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Т.2 / Москва, 2018. – 1448 с. [Электронный ресурс] / URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/index.html - 15.08.2019
16. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Т.3 / Москва, 2018. – 1925 с. [Электронный ресурс] / URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_3/HTML/index.html - 15.08.2019
17. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Т.4 / Москва, 2018. – 1832 с. [Электронный ресурс] / URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_4/HTML/index.html - 15.08.2019.
18. Гриненко, Н.А. Химическое изучение сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.): автореф. дис. канд. фарм. наук: 15.00.02. / Н.А. Гриненко. – Москва, 1992. - 23 с.
19. Громов, А.Н. Сирень / А.Н. Громов. – М.: Моск. рабочий, 1963. – 248 с.
20. Дмитрук, С.Е. Антифунгальные свойства биологически активных веществ некоторых представителей флоры Сибири.: автореф. дис. д-ра фарм.н./ С.Е. Дмитрук. – Харьков, 1991. – 45 с.
21. Запесочная, Г.Г. Фенилпропаноиды культуры ткани *Rhodiola rosea*/ Г.Г. Запесочная, В.А. Куркин, И.В. Александрова // Тезисы докладов V Всеююзного симпозиума по фенольным соединениям (секция химии). – Таллинн, 1987. – С.35-36.
22. Иванова, З.Я. Сирень / З.Я. Иванова. – М. : Издат. Дом МСП, 2005. – 192 с.

23. Киселева, Т.Л. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества / Т.Л. Киселева, Ю.А. Смирнова. – М.: Издательство Профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2009. – 295с.
24. Климова, И.Ю. Аналитические и технологические исследования по разработке новых препаратов на основе коры сирени обыкновенной: дис. канд. фарм. наук: 15.00.02. / И.Ю. Климова. – Самара, 2005. – 161 с.
25. Климова, И.Ю. Исследования по разработке новых фитопрепаратов на основе коры сирени обыкновенной / Межрегиональная конференция молодых ученых «Аспирантские чтения - 2004». - Самара, 2004. - С. 103-106.
26. Климова, И.Ю. Сирени настойка - новое иммуномодулирующее и тонизирующее лекарственное средство / Межрегиональная конференция молодых ученых «Аспирантские чтения- 2003». - Самара, 2003. - С. 104-105.
27. Коропачинский, И.Ю. Древесные растения Азиатской флоры / И.Ю. Коропачинский, Т.Н. Встовская. – Новосибирск: изд-во СО РАН: Гео. фил., 2002. – 706 с.
28. Крючкова, В.А. Биотехнологические приемы оптимизации микрклонального размножения и адаптации генотипов сирени (*Syringa vulgaris* L.): дис. канд. биолог. наук: 06.01.05, 03.00.23 / В.А. Крючкова. – М., 2005. – 204 с.
29. Кузнецов, П.В. Именные (цветные) реакции в фармацевтическом и химикотоксикологическом функциональном анализе: учебное пособие / П.В. Кузнецов. – Кемерово: АИ «Кузбассвуиздат», 2016. – 167 с.
30. Куркин, В.А. Антиоксидантная активность некоторых тонизирующих и гепатопротекторных фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды / В.А. Куркин, О.Л. Кулагин, Н.С. Додонов, А.А. Царева, Е.В. Авдеева, А.В. Куркина и др. // Растительные ресурсы. - 2008. - Т. 44, вып. 1. - С. 122-129.
31. Куркин, В.А. Итоги и перспективы исследований в области создания препаратов на основе лекарственного растительного сырья, содержащего фенилпропаноиды/ В.А. Куркин, Г.Г. Запесочная, Е.В. Авдеева // Поиск, разработка и внедрение новых лекарственных средств и организационных форм фармацевтиче-

- ской деятельности: Материалы докладов Международной научной конференции. Томск, 2000. – С.40-42.
32. Куркин, В.А. Иридоиды коры сирени обыкновенной / В.А. Куркин, Г.Г. Запесочная, Н.А. Гриненко // Химия природ. соединений. – 1990. - №5. – С. 695.
33. Куркин, В.А. К вопросу о стандартизации лекарственного сырья содержащего флавоноиды и фенилпропаноиды / В.А. Куркин, О.В. Маевская, В.Б. Браславский и др. // Применение хроматографии в пищевой, микробиологической и медицинской промышленности: Материалы Всесоюзной конференции. Геленджик, 1990. – С.85-86.
34. Куркин, В.А. Лекарственные растения - перспективный источник иммуномодуляторов / В.А. Куркин, В.Н. Ежков, Г.Г. Запесочная и др. II Дни иммунологии и аллергологии в Самаре: Сборник статей научно-практической конференции Приволжского федерального округа. (19-21 июня) / Под ред. академика РАМН, профессора Р.М. Хаитова. - Самара. Офорт, 2004. - С. 94-101.
35. Куркин, В.А. Лигнаны коры *Syringa vulgaris* / В.А. Куркин, Н.А. Гриненко, Г.Г. Запесочная // Химия природ. соединений. – 1992. - №6. – С. 768-771.
36. Куркин, В.А. Нейротропная активность некоторых фитопрепаратов, содержащих фенилпропаноиды / В.А. Куркин, А.В. Дубищев, И.Н. Титова и др. // Фармация. - 2003.-№6.-С. 30-31.
37. Куркин, В.А. Нейротропные свойства некоторых фитопрепаратов, содержащих фенилпропаноиды / В.А. Куркин, А.В. Дубищев, И.Н. Титова и др. // Растительные ресурсы. - 2003. - Т. 39., вып. 3. - С. 115-121.
38. Куркин, В.А. Перспективы использования в медицинской практике растительных иммуномодуляторов / В.А. Куркин, В.Н. Ежков, Г.Г. Запесочная и др. // Человек и лекарство: Тезисы докладов XI Российского национального конгресса (19-23 апреля) - М., 2004 - С. 153.
39. Куркин, В.А. Перспективы создания импортозамещающих лекарственных растительных препаратов / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, А.В. Дубищев, О.Л. Кулагин, В.Б. Браславский, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина и др. // Традиционная медицина. - 2011. - № 5 (28). - С.230-232.

40. Куркин, В. А. Перспективы создания новых иммуномодулирующих лекарственных средств на основе коры сирени / В.А. Куркин, Н.Л. Акимова, И.П. Жданов и др. // Самарскому государственному медицинскому университету - 80 лет: Сборник тезисов докладов научно - практической конференции / Под ред. лауреата Государственной премии РФ, заслуженного деятеля науки РФ, профессора Г.П. Котельникова - Самара, 1999. - С. 157-158.
41. Куркин, В.А. Радиола розовая (золотой корень): стандартизация и создание лекарственных препаратов / В.А. Куркин – Самара: ООО «Офорт», 2020. – 240 с.
42. Куркин, В.А. Сравнительное исследование диуретической активности водно-спиртовых извлечений лекарственных растений, содержащих флавоноиды / В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, А.В. Куркина, А.В. Дубищев, О.Е. Правдивцева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. Т. 159. - № 3. - С. 348-352.
43. Куркин, В.А. ТСХ- и ВЭЖХ-анализ сирингина в *Syringa vulgaris* / В.А. Куркин, Н.А. Гриненко, Г.Г. Запесочная // Химия природ. соединений. – 1992. - №1. – С. 45-49.
44. Куркин, В.А. Фармакогнозия : учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов) / В.А. Куркин – 4-е изд., перераб. и доп. – Самара : ООО «Офорт»: ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2019. – 1278 с.
45. Куркин, В.А. Фенилпропаноиды – перспективные природные биологически активные соединения / В.А. Куркин – Самара: СамГМУ, 1996. – 80 с.
46. Куркин, В.А. Фенольные соединения *Eleutherococcus senticosus* / В.А. Куркин, Р.И. Евстратова, Г.Г. Запесочная // Химия природных соединений. – 1991. - №6. – С. 854-856.
47. Куркин, В.А. Фенольные соединения коры *Syringa amurensis* / В.А. Куркин, Р.И. Евстратова, Г.Г. Запесочная и др. // Химия природных соединений. – 1992. - №5. – С. 583-585.

48. Куркин, В.А. Фенольные соединения коры *Syringa vulgaris* / В.А. Куркин, Г.Г. Запесочная, Н.А. Гриненко // Химия природных соединений. – 1989г. - №4. – С. 581-582.
49. Куркин, В.А. Флавоноиды и маннит из листьев *Syringa vulgaris* / В.А. Куркин, Г.Г. Запесочная, П.Е. Кривенчук // Химия природных соединений. – 1980. - №3. – С. 418-419.
50. Куркин, В.А. Фенилпропаноиды лекарственных растений: монография / В.А. Куркин, Г.Г. Запесочная, Е.В. Авдеева и др. – Самара: ООО «Офорт»; ГОУВ-ПО «СамГМУ», 2005. – 128 с.
51. Куркина, А.В. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов на основе флавоноидов / А.В. Куркина // Традиционная медицина. - 2011. - № 5 (28). - С. 232-239.
52. Куркина, А.В. Актуальные аспекты стандартизации эфиромасличного лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды // Традиционная медицина. - 2010. - №3(22).- С . 176-179.
53. Куркина, А.В. Актуальные вопросы химической стандартизации лекарственных растений, содержащих флавоноиды / А.В. Куркина // Фармация. - 2012. - Т. 60, № 7. - С. 44-48.
54. Куркина, А.В. Подходы к стандартизации сырья, содержащего флавоноиды / А.В. Куркина // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2013. - №5. - С.38 .
55. Куркина, А.В. Современная стандартизация как методологическая основа рационального использования ресурсов лекарственных растений, содержащих флавоноиды / А.В, Куркина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. -2012, -Т. 14, № 1 (9). - С. 2253-2256.
56. Куркина, А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография / А.В. Куркина. – Самара: ООО «Офорт», 2012. – 230 с.
57. Куркина, А.В. Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и препаратов фармакопейных растений, содержащих флавоноиды.: Автореф. дис. д-ра фарм.н. / А.В. Куркина. – Самара, 2013. – 48 с.

58. Курченко, В.П. Биологически активные вещества коры различных видов сирени / В.П. Курченко, М.А. Капустин, Е.В. Чудновская и др. // Труды БГУ 2016. – 2016. – Т. 11, Ч.2. – С. 111-122.
59. Лунева, З.С. Сирень / З. С. Лунева, Н.Л. Михайлов, Е.А. Судакова. – М. : Агропромиздат, 1989. – 256 с.
60. Лучник, З.И. Интродукция деревьев и кустарников в Алтайском крае / З.И. Лучник. – М.: Колос, 1970. – 655 с.
61. Лучник, З.И. Интродукция сортов сирени в Алтайском крае / З.И. Лучник // Бюл. ГБС АН СССР. – М.: АН СССР, 1987. – Вып. 145. – С. 21-27.
62. Маевский, П.Ф. Флора средней полосы европейской части России / П.Ф. Маевский. - М: Товарищество научных изданий КМК, 2006. - С. 179- 182.
63. Македонская, Н.В. Биоразнообразие рода *Syringa* L. в коллекции ЦБС НАН Беларуси / Н.В. Македонская // Интродукция нетрадиционных и редких растений: материалы науч. - метод. конф. (8-12 июня 2008, Мичуринск). – Мичуринск: Изд-во Мичуринского госагроуниверситета, 2008. – Т. 2. – С.69-71.
64. Македонская, Н.В. Исследования сирени в Беларуси / Н.В. Македонская // Интродукция растений на початку ХХІ століття: досягнення і перспективи розвитку досліджень: матеріали міжнар. наук. конф. Київ: Фітосоціоцентр, 2005. – С. 99-101.
65. Минина С.А. Химия и технология фитопрепаратов: учебное пособие / С.А. Минина, И.Е. Каухова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 560 с.
66. Никитин, А.А. Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений / А.А. Никитин, И.А. Панкова. - Л.: Наука, ленинградское отделение. - 1982. С. 493-499.
67. Ожерельева, З.Е. Изучение зимостойкости сортов сирени / З.Е. Ожерельева, Г.А. Павленкова // Современные аспекты структурно-функциональной биологии растений и грибов. – Орел: ОГУ, 2010. – С. 184-186.

68. Ожерельева, З.Е. Потенциал устойчивости сортов сирени к низким температурам в осенне-зимний период / З.Е. Ожерельева, Г.А. Павленкова // Современное садоводство. – 2011. – №1 (3). – С. 29-32.
69. Окунева, И.Б. Сирень (*Syringa L.*): способы выращивания / И.Б. Окунева. – М. : Армада-пресс, 2001. – 31 с.
70. Окунева, И.Б. Сирень: коллекция ГБС РАН : история и современное состояние / И.Б. Окунева, Н.Л. Михайлова, А.С. Демидов. – М.: Наука, 2008. – 174 с.
71. Павленкова, Г.А. Биологические особенности и декоративные качества представителей рода Сирень (*Syringa L.*) в условиях центрально-черноземного региона России: дис. канд. с.-х. наук: 06.01.08 / Г. А. Павленкова. – М., 2019. – 287 с.
72. Павленкова, Г.А. Изучение зимостойкости видов сирени в контролируемых условиях / Г.А. Павленкова // Плодоводство и ягодоводство России. – 2015. – Т. XXXXII. – С. 347-350.
73. Павленкова, Г.А. Изучение основных показателей водного режима видов сирени / Г.А. Павленкова // Плодоводство и ягодоводство России. – 2014. – Т. XXXIX. – С. 172-175.
74. Павленкова, Г.А. Оценка устойчивости видовых сиреней к неблагоприятным факторам зимнего периода / Г.А. Павленкова // Параметры адаптивности многолетних культур в современных условиях развития садоводства и виноградарства : материалы V Междунар. дистанционная научно-практ. интернет-конф. молодых ученых (15 мая-15 июня 2013, Краснодар) [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://www.kubansad.ru/content/sekcija1-adaptivnyj-potencial-plodovyh-yagodnyh-dekorativnyh-kultur-i-vinograda/pawlenkova.doc>. - 20.09.2020.
75. Паштецкий, В.С. Использование эфирных масел в медицине, ароматерапии, ветеринарии и растениеводстве / В.С. Паштецкий, Н.В. Невкрытая. – Симферополь: Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, 2018. - №1(13). – С.16-38.

76. Полякова, Н.В. Биологические особенности представителей рода *Syringa* L. при интродукции в Башкирском Предуралье: дис. канд. биолог. наук : 03.02.01 / Н.В. Полякова. – Уфа, 2010. – 188с.
77. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства *Raeoniaceae* - *Thymelaeaceae*. - Л.: Наука, 1986. - 336 с.
78. Рубцов, Л.И. Виды и сорта сирени, культивируемые в СССР: каталог-справочник / Л.И. Рубцов, Н.Л. Михайлов, В.Г. Жоголева. – Киев: Наукова думка, 1980. – 128 с.
79. Рубцов, Л.И. Деревья и кустарники в ландшафтной архитектуре: справочник / Л.И. Рубцов. – Киев: Наукова думка, 1977. – 272 с.
80. Рубцов, Л.И. Справочник по зеленому строительству / Л.И. Рубцов, А.А. Лаптев. – 2-е изд., перераб. и доп. – Киев: Будівельник, 1971. – 312 с.
81. Сааков С.Г. Род Сирень – *Syringa* L. Род Трескун – *Ligustrina Rupr.* Деревья и кустарники СССР: в 6-ти т. – М.; Л.; Изд-во АН СССР, 1960. – Т. 5. – С. 435-462.
82. Самылина, И.А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие в 2-х томах. / И.А. Самылина, О.Г. Аносова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – Т.2. – С. 384.
83. Сергиевская, Е.В. Систематика высших растений / Е.В. Сергиевская. - Практический курс: - СПб., 1998. - С. 280.
84. Соловьева, С.Я. Анализ и стандартизация корневищ и корней элеутерококка и его экстракта жидкого по содержанию биологически активных веществ / С.Я. Соловьева, Т.В. Петухова, Р.Д. Грешных // Фармация. – 1989. – Т39. - №1. – С. 25-27.
85. Стрекалов, И.Ф. Сирень / И.Ф. Стрекалов, Н.И. Потапова. – М. : ЗАО «Фитон+», 2002. – 144 с.
86. Тавлинова, Г.К., Гладкий В.Н. Сирень / Г.К. Тавлинова, В.Н. Гладкий. – М. : Эксмо; СПб.: Терция, 2003. – 64 с.
87. Флора СССР / под ред. Б.К. Шишкина, Е.Г. Боброва. – М. ; Л. : АН СССР, 1952. – Т. XVIII. – С. 506-507.

88. Холодова, Ю.Б. Динамика тревожности в период пандемии COVID-19 / Ю.Б. Холодова // COVID-19 и современное общество. – Пенза: Наука и просвещение, 2020. – С. 139-142.
89. Чучалин, А.Г. Система оксиданты – антиоксиданты и пути медикаментозной коррекции / А.Г. Чучалин // Пульмонология. – М., 2004. – С.111-115.
90. Шаршунова, М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии / М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец. – М.: Мир, 1980. – Т. 1, 2. – С. 20.
91. Энциклопедия декоративных садовых растений
<https://www.packagile.ru/index.html> дата обращения 22.06.2020
92. Bircofer L. Acteosid und Neoacteosid; Zuckerester aus *Syringa vulgaris* L. / L. Bircofer, C. Kaiser, U. Thomas // Z. Naturforschung. – 1968. – Bd. 23 B, N. 7/8. – P. 1051-1058.
93. Bladt S. HPLC fingerprint analysis and standartization of *Eleutherococcus* (*Acanthopanax*) extracts / S. Bladt, H. Wagner, W.S. Woo // Biologi and Chemistry of Active Natural Substances: Short report of short lectures and poster presentation of Bonn Vacans. // Int. Joint Symposium. – Bonn, 1990. – P. 78.
94. Bohn B. Flow-cytomeric studies with *Eleutherococcus senticosus* extract as an immunostimulatory agent / B. Bohn, C. T. Nebe, C. Birr // Arzneimittel-Forschung (Drug Research), 1987. – Vol.37 (II), N. 10. – P. 1193-1196.
95. Cui, H.X. Gas exchanges of an endangered species *Syringa pinnatifolia* Hemsl. and a widespread congener *S. oblate* Lindl. / H.X. Cui, G.M. Jiang, S.L.Niu, Y.G. Li // Photosynthetica. – 2004. – Vol. 42, № 4. – P. 529-534.
96. Ellis, B.E. Natural products from plant tissue culture / B.E. Ellis // Phytochemistry – 1988 – Vol. 5, N. 9. – P. 581-612.
97. Ellis, B.E. Production hydroxyphenylethanol glycosides in suspension cultures of *Syringa vulgaris* / B.E. Ellis // Phytochemistry. – 1983. – Vol.22. – N9. – P. 1941-1943.
98. El-Naggar, L.J. Iridoids (a review) / L. J. El-Naggar, L.J. Beal // J. Nat. Prod. – 1980. – Vol. 43, N.6. – P. 649-652.

99. Hibben, C.R. Micoplasmalike organisms, cause of lilac witches-broom / C.R. Hibben, C.A. Lewis, J.D. Castello // *Plant Dis.* – 1986. – Vol. 70. - № 4. – P. 342-345.
100. Hikino H. Antihepatotoxic actions of lignoids from *Schizandra chinensis* fruits / H. Hikino, H. Kiso, H. Tagauci et al. // *Planta medica.* – 1984. – Vol. 50, N. 2. – P. 213-218.
101. Howard, B.H. Responses of dark-preconditioned and normal light-grown cuttings of *Syringa* L. 'Madame Lemoine' to light and wetness gradients in the propagation environment / B. H. Howard, R.S. Harrison-Murray // *J. hortic. Sc.* – 1995. – Vol. 70. - № 6. – P. 989-1001.
102. Ikeya, Y. A lignin from *Schizandra chinensis* / Y. Ikeya, H. Taguchi, H. Mitsuhashi et al. // *Phytochemistry.* – 1988. – Vol. 27, N. 2. – P. 569-573.
103. Karrer, W. Konstitution und Vorcommen der organischen Pflanzenstoffe / W. Karrer. – Basel-Boston-Stuttgart: Birkhauser Verlag, 1985. – Ergänzung 2. – Teil 2. – 2328 s.
104. Kikuchi, M. Studies on the constituents of *Syringa species*. 3. Isolation and structures of acylated glycosides from the leaves of *Syringa reticulata* (Blume) Hara / M. Kikuchi, Y. Yamauchi, F. Tanade // *Yakugaku Zasshi.* – 1987. – Vol. 107, N.5. – P. 350-355.
105. Kikuchi, M. Studies on the constituents of *Syringa species*. 8. Isolation and structures of phenylpropanoid glycosides from the leaves of *Syringa reticulata* (Blume) Hara / M. Kikuchi, Y. Yamauchi, Y. Takahashi // *Yakugaku Zasshi.* – 1989. – Vol. 109, N.6. – P. 366-377.
106. Kikuchi, M. Studies on the constituents of *Syringa species*. 4. Structures of lignin glycosides from the leaves of *Syringa vulgaris* / M. Kikuchi, Y. Takahashi, F. Ogasawa // *Ann. Rep. Tohoku Coll. Pharm.* – 1988. – Vol. 35, N.6. – P. 105-111. C.A. 1990. – V.113. – N.21, 187988 v.
107. Kurkin, V.A. Phenolic compounds of the bark of *Syringa vulgaris* / V.A. Kurkin, G.G. Zapesochnaya, N.A. Grinenko, B.M. Zolotarev // *Chemistry of Natural Compounds.* – 1989. – Vol.25, No. 4. – P.499-500.

108. Kurkin, V.A. Phenylpropanoids of some medicinal plants / V.A. Kurkin, G.G. Zapesochnaya, E.V. Avdeeva // Second International symposium of the chemistry of natural compounds: Abstracts of SCNC. – Turkey, 1996. – P.319.
109. Kurkin, V.A. Antidepressant activity of some phytopharmaceuticals and phenylpropanoids / V.A. Kurkin, A.V. Dubishcev, V.N. Ezhkov, I.N. Titova, E.V. Avdeeva // Pharmaceutical Chemistry Journ. – 2006. – Vol. 42, No. 10. – P.614-818.
110. Lingelsheim, A. *Syringa* L. // Das Pflanzenreich. – 1920. – N. 72. – S.74-95.
111. McKelvey, S.D. The Lilac. – New York: McMillan comp., 1928. – 581p.
112. Nickerson, C.P. Rooting lilacs from softwood cuttings / C.P. Nickerson // Comb. Proc. / Intern. Plant Propagators' Soc. – S.L., 1996. – Vol. 45. – P. 502-503.
113. Orlikowski, L.B. First notice of Phytophthora stem base rot on *Syringa vulgaris* L. in a Polish field nursery / L.B. Orlikowski, M. Ptaszek // J. of plant protection research / Inst. of plant protection, Polish acad. of science. – 2010. – Vol. 50. - № 4. – P. 442-445.
114. Pikovskyi, M.Y. Pathogenic microflora of *Syringa* L. Plants / M. Y. Pikovskyi, O. V. Kolesnichenko, V. I. Melnyk, S. M. Hrysiuk // Биоресурсы и природопользование. – 2019. – Vol. 11. – No 1-2. – P. 26-33.
115. Price, M.R. Propagation of French hybrid lilacs Comb. Proc. / M.R. Price // Comb. Proc. / Intern. Plant Propagators' Soc. – S.L., 2000. – Vol. 49. – P. 325-327.
116. Rose, J.B., Kubba J., Tobutt K.R. Chromosome doubling in sterile *Syringa vulgaris* L. × *S. pinnatifolia* Hemsl. hybrids by vitro culture of nodal explants // Plant Cell Tissue Organ Cult. – 2000. – Vol. 63, № 2. – P. 127-132.
117. Schopen R.D. Searching for a new therapeutic principle. Experience with hepatic therapeutic agent legalon / R.D. Schopen, O.K. Lange, C. Panne // Medical Welt. – 1969. – N. 20. – P. 888-893.
118. Spellerberg, B. Verbesserung des Vermehrungserfolges bei schwer vermehrbaren Laubgehölzen. 2. Stecktermin und wachstumsfördernde Massnahmen für Austriebsleistung und anschließende Überwinterungsrate der bewurzelten Stecklinge / B. Spellerberg // Gartenbauwissenschaft. – 1986. – Vol.51. - № 4. – P. 159-165.

119. Sticher, O. Two new secoiridoid glycosides from *Syringa vulgaris* / O. Sticher, M. Ahmad, O. Salama // *Planta Medica*. – 1982. – Vol. 45. – N.3. – P. 151.
120. Xinlu, C. Analysis of genetic relationship among lilacs (*Syringa* L.) by RAPD / C. Xinlu, X. Zhao, B.N. White et al. // *Acta hort. Sinica*. – 1995. – Vol. 22. - № 2. – P. 171-175.
121. Yessad-Carreau, S. Occurrence of specific reactions induced by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on bean pods, lilac and pear plants / S. Yessad-Carreau, C. Manceau, Luisetti // *Plant Pathol.* – 1994. – Vol. 43. - № 3. – P. 528-536.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Сравнительное анатомо-морфологическое исследование листьев сирени обыкновенной и сирени венгерской

Таблица 1

Сравнительная характеристика диагностических признаков сирени обыкновенной и сирени венгерской

Морфологические признаки листа		
Признак	Сирень обыкновенная	Сирень венгерская
Размеры	В длину до 12 см. Ширина по собственным данным – до 6 см.	В длину до 8 см. Ширина по собственным данным - до 4 см.
Тип листа (простой, сложный; сидячий, черешковый)	Простой, черешковый	Простой, черешковый
Форма листовой пластинки (округлая, яйцевидная, ланцетовидная и т.д.)	Яйцевидная	Эллиптическая, реже удлиненояйцевидная,
Степень изрезанности листовой пластинки (цельная, лопастная, раздельная, рассеченная)	Цельная	Цельная
Верхушка листовой пластины	Заостренная	Заостренная
Основание листовой пластинки	Сердцевидное или прямосрезанное	Округло-клиновидное
Край листовой пластинки	Цельный	Цельный
Жилкование листовой пластинки	Перисто-сетчатое	Перисто-сетчатое
Опушение листовой пластинки	Голые с обеих сторон	Голые с обеих сторон

Сравнительная характеристика диагностических признаков сирени обыкновенной и сирени венгерской

Анатомо-гистологические признаки листа		
Признак	Сирень обыкновенная	Сирень венгерская
Анатомический тип листовой пластинки (дорзо/изо)	Дорзовентральный	Дорзовентральный
Выраженность и особенности мезофилла	Столбчатый мезофилл расположен с верхней стороны листа, губчатый – с нижней. Губчатый и столбчатый мезофилл занимают практически равный объем в толще листовой пластинки.	Столбчатый мезофилл состоит из одного или реже двух рядов клеток, в толще листовой пластинки занимает в среднем около 35 %. Губчатый мезофилл рыхлый, ярко выражен, в толще листовой пластинки занимает большую часть объема (в среднем около 65%).
Жилкование. Наличие выраженной центральной жилки	Выраженная главная жилка с 1 проводящим пучком, коллатеральным с-образным, закрытого типа.	Выраженная главная жилка с 1 проводящим пучком, коллатеральным с-образным, закрытого типа.
Количество проводящих пучков, их тип и особенности расположения в листе	1 проводящий коллатеральный с-образный пучок закрытого типа	1 проводящий коллатеральный с-образный пучок закрытого типа
Особенности структуры пучков (армированность, гистология ксилемы/флоэмы, наличие выделительных элементов)	Объем колленхимы и флоэмы пучка примерно в равных значениях. Пучок сильно пигментирован за счет мелко-клеточной флоэмной	Объем колленхимы и флоэмы пучка примерно в равных значениях. Пучок сильно пигментирован за счет мелко-клеточной флоэмной

	<p>части, а также живых протопластов клеток сердцевинных лучей ксилемы. Со стороны флоэмной ткани склеренхима выражена слабо. Клетки её тонкостенные дающие положительную реакцию на лигнин.</p>	<p>части, а также живых протопластов клеток сердцевинных лучей ксилемы. Со стороны флоэмной ткани склеренхима выражена слабо. Клетки её тонкостенные дающие положительную реакцию на лигнин.</p>
<p>Паренхима центральной жилки</p>	<p>Клетки паренхимы рыхлые, мелкие, округлой формы, плотно прилегающие друг к другу, расположены в адаксиальной и абаксиальной части жилки</p>	<p>Клетки паренхимы рыхлые, крупные, неправильной формы, плотно прилегающие друг к другу, расположены в адаксиальной и абаксиальной части жилки</p>
<p>Армированность листовой пластинки. Колленхима (локализация, тип утолщения стенок)</p>	<p>С Адаксиальной стороны жилка армирована значительным блоком уголковой колленхимы занимающей до 10 слоёв клеток. Клеточные стенки колленхимных клеток значительно утолщены к поверхности. Во внутренних слоях колленхима тонкостенная. С абаксиальной стороны центральной жилки колленхимный слой выражен слабо. Он занимает от трёх до четырёх слоёв клеток, стенки которых утолщаются к поверхности листа.</p>	<p>С Адаксиальной стороны жилка армирована блоком уголковой колленхимы, занимающей до трех слоев тонкостенных клеток. С абаксиальной стороны центральной жилки колленхимный слой выражен сильнее. Он занимает от четырех до шести слоёв тонкостенных клеток.</p>

<p>Эпидермис низ/верх, жилка (характер клеток эпидермы: форма, размеры, извилистость, степень утолщенности клеточной стенки, особенности протопласта)</p>	<p>С нижней стороны листовой пластинки клетки эпидермы неправильной формы с извилистым краем. Над жилкой они как правило вытянутые почти прямоугольные. Кутикулярный слой нижнего эпидермиса выражен сильнее. Кутикула продольно морщинистая. Она в области желёзок и устьичных аппаратов часто радиально морщинистого типа.</p>	<p>С нижней стороны листовой пластинки клетки эпидермы неправильной формы с извилистым краем. Над жилкой они как правило вытянутые почти прямоугольные. Кутикулярный слой нижнего эпидермиса выражен сильнее. Кутикула продольно морщинистая. Она в области желёзок и устьичных аппаратов часто радиально морщинистого типа.</p>
<p>Производные эпидермы. Устьичные аппараты (типы, локализация, размеры, характер замыкающие клеток).</p>	<p>Лист гипостоматический. Устьичные аппараты, расположенные только с нижней стороны листовой пластинки встречаются часто и имеют анамоцитный тип строения.</p>	<p>Лист гипостоматический. Устьичные аппараты, расположенные только с нижней стороны листовой пластинки встречаются часто и имеют анамоцитный тип строения.</p>
<p>Производные эпидермы. Трихомы (типы, локализация, особенности-структуры: основание волоска, окончание волоска).</p>	<p>С поверхности изредка встречаются железистые трихомы. При рассмотрении на поперечном сечении диагностируется их погруженность в мезофилл. Железистые трихомы встречаются как с нижней стороны так и с верхней стороны листовой пластинки при этом встречаемость железистых трихом значительно больше с нижней стороны. Железистая трихома –</p>	<p>Трихомы встречаются редко на нижней стороне листа в области центральной жилки.</p>

	желёзка имеет грибовидную структуру. Она состоит из одноклеточной ножки и многоклеточной головки, включающей от шести до девяти клеток.	
--	---	--

Приложение 2. Акты о внедрении результатов диссертационного исследования

«Утверждаю»

Начальник ГБУЗ

«Центр контроля качества
лекарственных средств
Самарской области»

О.В. ОСИПОВА

12 2020 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Серебряковой Анастасии Дмитриевны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Сирень (*Syringa vulgaris* L.) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) в ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»

Комиссия в составе сотрудников ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» заместителя начальника центра Жнякиной Л.Е., провизора-аналитика Власовой Г.И., провизора-аналитика Мироновой Е.Е. подтверждает использование материалов диссертационного исследования Серебряковой А.Д., посвященного фармакогностическому исследованию листьев и цветков сирени обыкновенной при анализе лекарственного растительного сырья. Разработанные методики количественного анализа апробированы в процессе работы Центра. В основе разработанных методик лежат методологические подходы, предусматривающие использование УФ-спектроскопии в присутствии СО хлорогеновой кислоты, СО рутина. Методики определения суммы флавоноидов в сырье листьев сирени обыкновенной, а также методики определения суммы фенилпропаноидов в сырье цветков сирени воспроизводимы и удобны в работе.

Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Серебряковой А.Д. будет способствовать повышению объективности стандартизации лекарственного растительного сырья сирени обыкновенной, а также лекарственных препаратов на основе данных видов сырья.

Члены комиссии:

Заместитель начальника ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области», кандидат фармацевтических наук

 Л.Е. ЖНЯКИНА

Провизор-аналитик ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»

 Г.И. ВЛАСОВА

Провизор-аналитик ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»

 Е.Е. МИРОНОВА

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «Самарская фармацевтическая фабрика»



М.С. Глебов

2021 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов диссертационного исследования Серебряковой Анастасии Дмитриевны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Сирень (*Syringa L.*)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «фармацевтическая химия, фармакогнозия» в ООО «Самарская фармацевтическая фабрика»

Результаты диссертационной работы Серебряковой А.Д., посвященные фармакогностическому исследованию листьев и цветков сирени обыкновенной.

Внедренные результаты используются в рабочем процессе ООО «Самарская фармацевтическая фабрика» и способствуют автоматизации процесса анализа лекарственного растительного сырья; научному обоснованию целесообразности и объективности использования современных подходов контроля качества и стандартизации по показателям наличия основных групп биологически активных веществ (подлинности) и их количественного содержания.

Главный технолог
ООО «Самарская фармацевтическая фабрика»

Д.С. Зуев

« 15 » _____ 11 2021 г.

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор ООО «Лекарь»
Бобров Д.Ю.

« 15 » _____ 2021 г.

Акт внедрения

Наименование предложения: результаты диссертационного исследования, посвященные фармакогностическому изучению листьев и цветков сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.).

Кем предложено, адрес исполнителя: Серебряковой А.Д., аспирантом кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89, (846)3321634.

Место внедрения: ООО «Лекарь», 446112, Самарская область, г. Чапаевск, ул. 1-ая Монтажная, 12б, (84639)2069808.

Результаты внедрения: результаты проведенных автором исследований внедрены в деятельность отдела контроля. Методики количественного анализа пригодны для анализа и стандартизации лекарственного растительного сырья, и предусматривают методы УФ-спектроскопии в присутствии СО хлорогеновой кислоты и СО рутин. Методики имеют удовлетворительные показатели воспроизводимости. Преимуществом предложенных методик является селективность, экспрессность, высокая точность.

*И. И. И.**Д. Ю. Б.*

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «Самарская фармацевтическая фабрика»

_____ М.С. Глебов
 « 15 » _____ 2021 г.

**АКТ ВНЕДРЕНИЯ**

результатов диссертационного исследования Серебряковой Анастасии Дмитриевны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Сирень (*Syringa L.*)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «фармацевтическая химия, фармакогнозия» в ООО «Самарская фармацевтическая фабрика»

Результаты диссертационной работы Серебряковой А.Д., посвященные фармакогностическому исследованию листьев и цветков сирени обыкновенной.

Внедренные результаты используются в рабочем процессе ООО «Самарская фармацевтическая фабрика» и способствуют автоматизации процесса анализа лекарственного растительного сырья; научному обоснованию целесообразности и объективности использования современных подходов контроля качества и стандартизации по показателям наличия основных групп биологически активных веществ (подлинности) и их количественного содержания.

Главный технолог
 ООО «Самарская фармацевтическая фабрика»

Д.С. Зув

« 15 » _____ 11 2021 г.

“Утверждаю”

Генеральный директор

ЗАО «Самаралектравы»

Н.Д. ЛУЖНОВ

“ _____ 2022 г.



АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Серебряковой Анастасии Дмитриевны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Сирень (*Syringa L.*)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) в ЗАО «Самаралектравы»

Комиссия в составе сотрудников ЗАО «Самаралектравы»: зав. производством ЗАО «Самаралектравы» А.Н. Загорянского, главного инженера А.В. Никитенкова подтверждает использование материалов диссертационного исследования Серебряковой А.Д., посвященного изучению химического состава, вопросов фитохимической и морфолого-анатомической диагностики, разработке и обоснованию подходов к стандартизации новых видов лекарственного растительного сырья – «Сирени обыкновенной листья» и «Сирени обыкновенной цветки» в работе предприятия.

Разработанные методики качественного и количественного анализа, данные морфолого-анатомического исследования сырья сирени обыкновенной апробированы в процессе работы предприятия. Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов на основе сирени обыкновенной.

Члены комиссии:

Заведующий производством
ЗАО «Самаралектравы»

А.Н. ЗАГОРЯНСКИЙ

Главный инженер ЗАО «Самаралектравы»

А.В. НИКИТЕНКОВ

446554, Самарская область., Сергиевский район, с. Антоновка, ул. Полевая, д. 19А

“Утверждаю”

Проректор по научной работе
Самарского государственного
медицинского университета,
д.м.н., профессор

И.Л. Давыдкин

2021 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы
Серебряковой Анастасии Дмитриевны «Сравнительное фармакогностическое
исследование некоторых видов и сортов рода Сирень (*Syringa L.*)» на соискание
ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2.
Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) на кафедре
фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармакогнозии с ботаникой и
основами фитотерапии: зав. кафедрой, д.фарм.н., профессор Куркина В.А.,
профессора кафедры, д.фарм.н., доцента Правдивцевой О.Е., доцента кафедры,
д.фарм.н., доцента Браславского В.Б. подтверждает использование материалов
научно-исследовательской работы Серебряковой А.Д., посвященной изучению
вопросов фитохимической и морфолого-анатомической диагностики, методов
стандартизации лекарственного сырья на основе представителей рода Сирень
(*Syringa L.*) в учебном процессе при проведении практических занятий со
студентами и ординаторами, а также в научно-исследовательской работе.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии
д. фарм. н., профессор

В.А. Куркин

Профессор кафедры
с ботаникой и основами фитотерапии
д. фарм. н., доцент

О.Е. Правдивцева

Доцент кафедры фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии
д. фарм. н., доцент

В.Б. Браславский

“Утверждаю”

Проректор по научной работе
Самарского государственного
медицинского университета,
д.м.н., профессор



И.Л. Давыдкин

2021 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы
Серебряковой Анастасии Дмитриевны «Сравнительное фармакогностическое
исследование некоторых видов и сортов рода Сирень (*Syringa L.*)» на соискание
ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2.
фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) на кафедре
фармацевтической технологии с курсом биотехнологий ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий: зав. кафедрой, доцента, д.фарм.н. А.В. Куркиной, профессора, д.фарм.н. С.В. Первушкина, доцента, к.фарм.н. Л.Д. Климовой, с подтверждает использование материалов научно-исследовательской работы Серебряковой А.Д., посвященной изучению химического состава и обоснованию использования в медицине лекарственного растительного сырья представителей рода Сирень (*Syringa L.*), в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами.

Используемые при этом результаты изучения химического состава, а также разработанные подходы к стандартизации сырья являются методической и методологической основой для научного обоснования ресурсосберегающих технологий.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой фармацевтической технологии
с курсом биотехнологий
д. фарм. н., доцент

А.В. Куркина

Профессор кафедры фармацевтической технологии
с курсом биотехнологий
д. фарм. н., профессор

С.В. Первушкин

Доцент кафедры фармацевтической технологии
с курсом биотехнологий
к. фарм. н., доцент

Л.Д. Климова

УТВЕРЖДАЮ
 Проректор по научной работе
 ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,
 лауреат премии Правительства РФ,
 д.м.н., профессор


 И.Л. Давыдкин
 “ 25 ” _____ 2022 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов диссертационной работы
 Серебряковой Анастасии Дмитриевны «Сравнительное фармакогностическое
 исследование некоторых видов и сортов рода Сирень (*Syringa L.*)»
 на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности
 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки)
 на кафедре химии Института фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры химии Института фармации:
 зав. кафедрой, д.фарм.н., доцента Воронина А.В., доцента кафедры, к.хим.н.,
 доцента Шариповой С.Х., доцента кафедры, к.биол.н., доцента Расцветовой Н.В.
 подтверждает использование материалов научно-исследовательской работы
 Серебряковой А.Д., посвященной изучению химического состава, определению
 диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации
 лекарственного растительного сырья видов рода Сирень (*Syringa L.*) в учебном
 процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-
 исследовательской работе в области изучения лекарственного растительного
 сырья, содержащего флавоноиды и фенилпропаноиды.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой химии Института фармации,
 д. фарм. н., доцент



А.В. Воронин

Доцент кафедры химии Института фармации,
 к. хим. н., доцент



С.Х. Шарипова

Доцент кафедры химии Института фармации,
 к. биол. н., доцент



Н.В. Расцветова

“Утверждаю”

Проректор по научной работе
Самарского государственного
медицинского университета,
д.м.н., профессор

И.Л. Давыдкин

_____ 2021 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы
Серебряковой Анастасии Дмитриевны «Сравнительное фармакогностическое
исследование некоторых видов и сортов рода Сирень (*Syringa L.*)» на соискание
ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2.
фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) на кафедре
управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры управления и экономики фармации: зав. кафедрой управления и экономики фармации, профессора, д.фарм.н. И.К. Петрухиной, профессора, д.фарм.н. Е.П. Гладуновой, доцента, к.фарм.н. Е.Л. Абдулмановой подтверждает использование материалов исследования Серебряковой А.Д., посвященного изучению химического состава и разработке подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья видов сирени, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты способствуют научному обоснованию целесообразности создания конкурентоспособных лекарственных препаратов, обладающих диуретическим и нейротропным действием, в том числе импортозамещающих.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой управления и экономики фармации
д. фарм. н., профессор



И.К. Петрухина

Профессор кафедры управления и экономики фармации
д. фарм. н., доцент



Е.П. Гладунова

Доцент кафедры управления и экономики фармации
к. фарм. н., доцент



Е.Л. Абдулманова

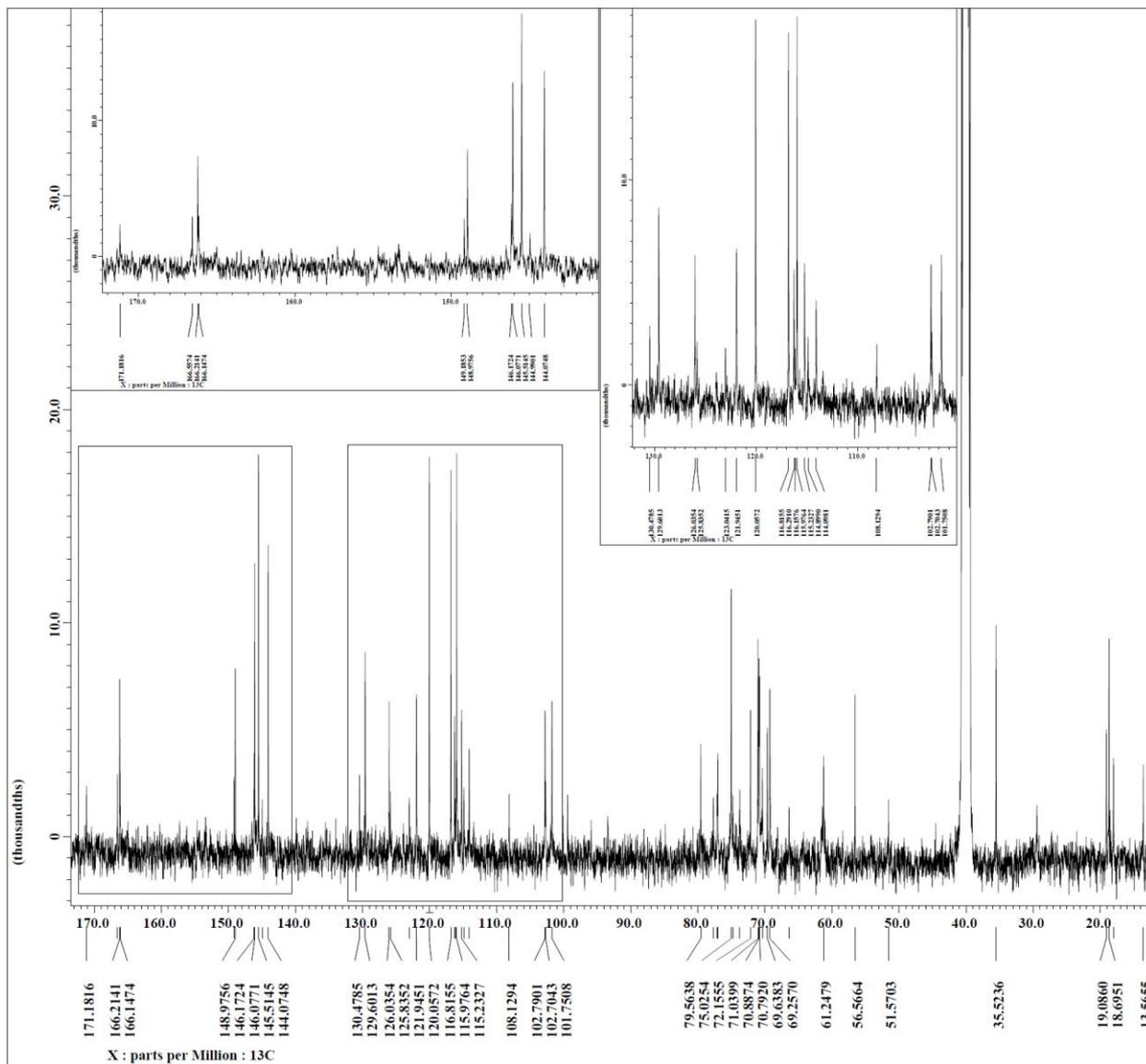


Рисунок 2 - ^{13}C -ЯМР-спектр актеозида (1) в DMSO-d_6

Display Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Chizhov\Miscellaneous\Kurkin\Nov_26_2021\sv-07_&clblow.d Acquisition Date 26.11.2021 20:52:36
Method tune_low.m Operator BDAL@DE
Sample Name /CHIZ SV-7 Instrument / Ser# micrOTOF 10248
Comment CH3OH 100 %, dil. 20, calibrant added

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active			Set Dry Heater	180 °C
Scan Begin	50 m/z	Set Capillary	4500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	3000 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Divert Valve	Waste

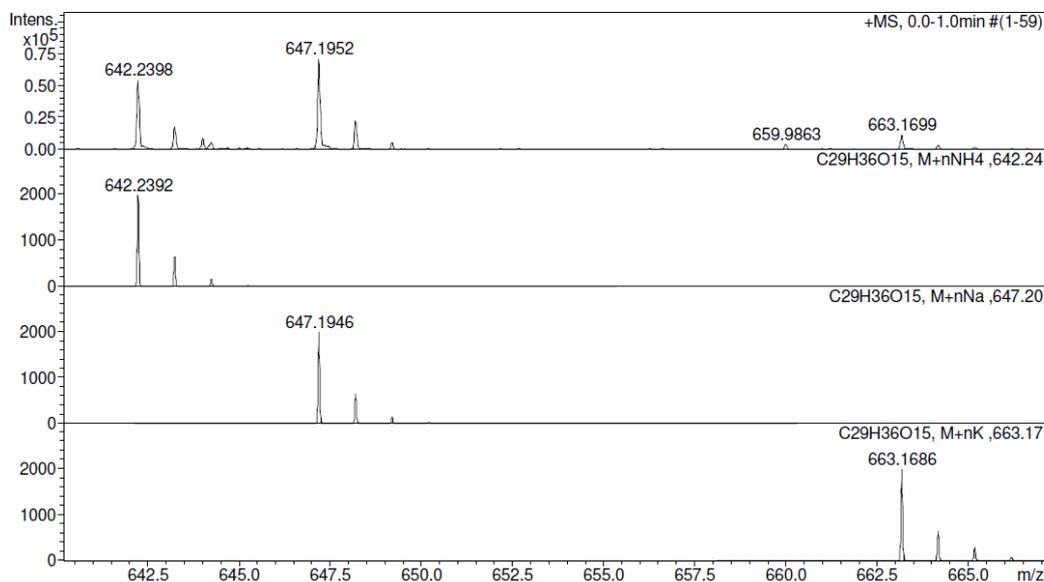
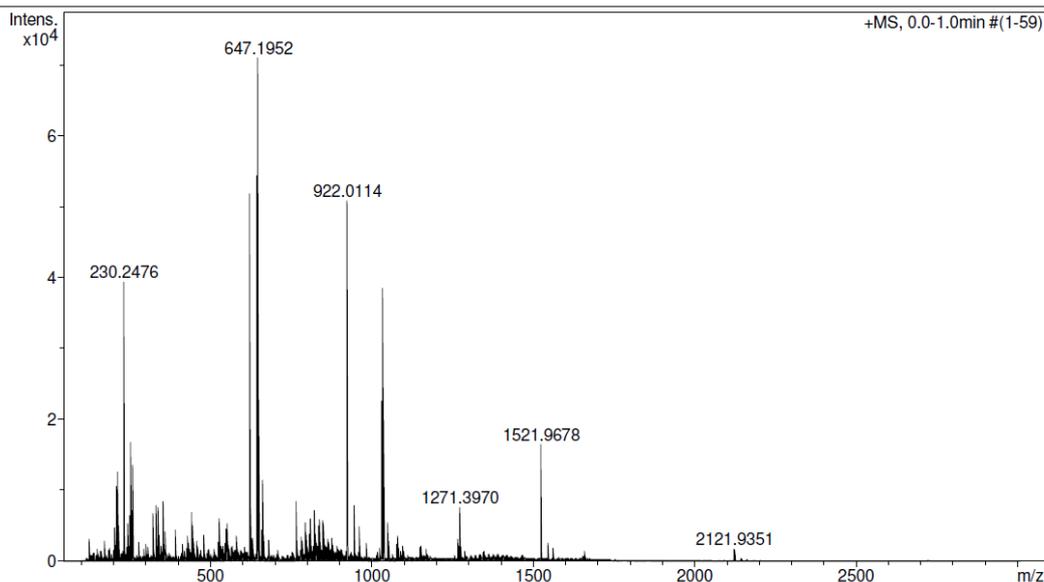
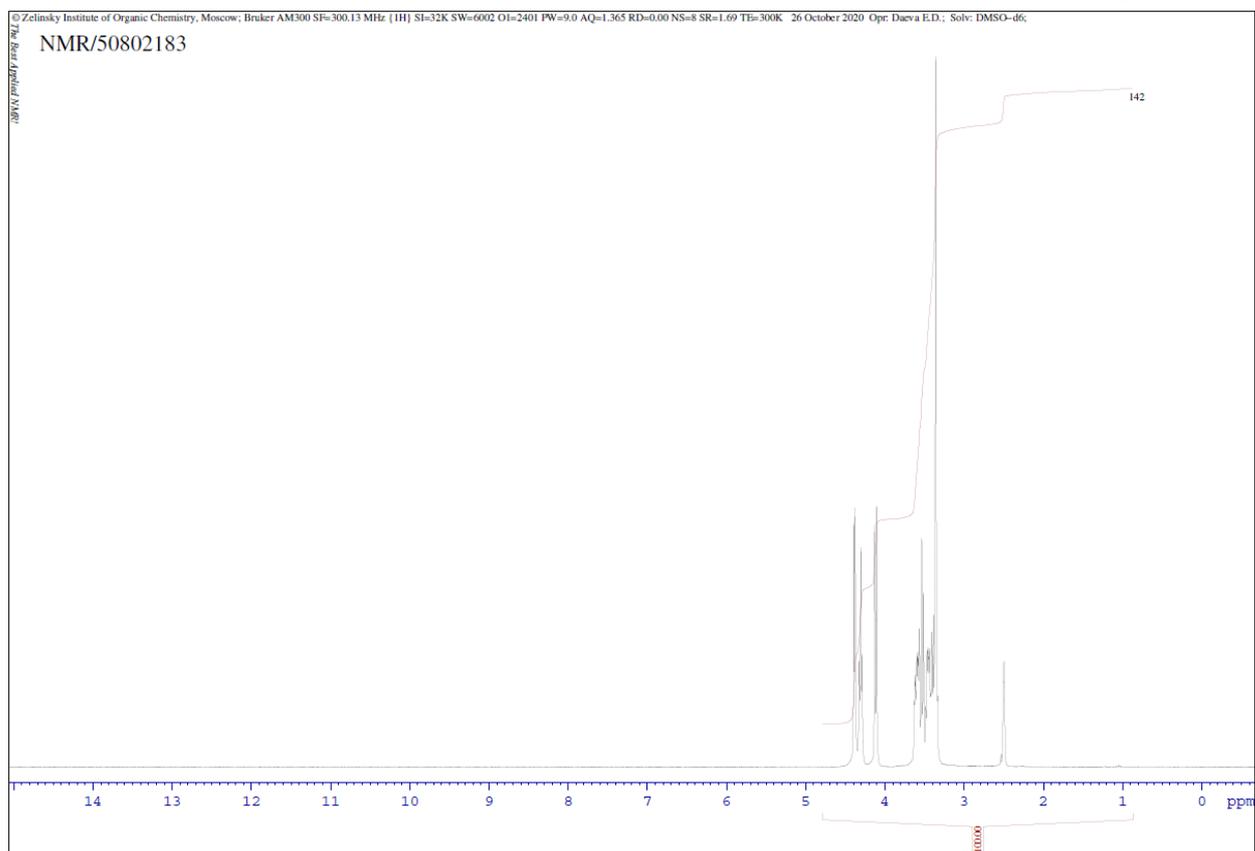
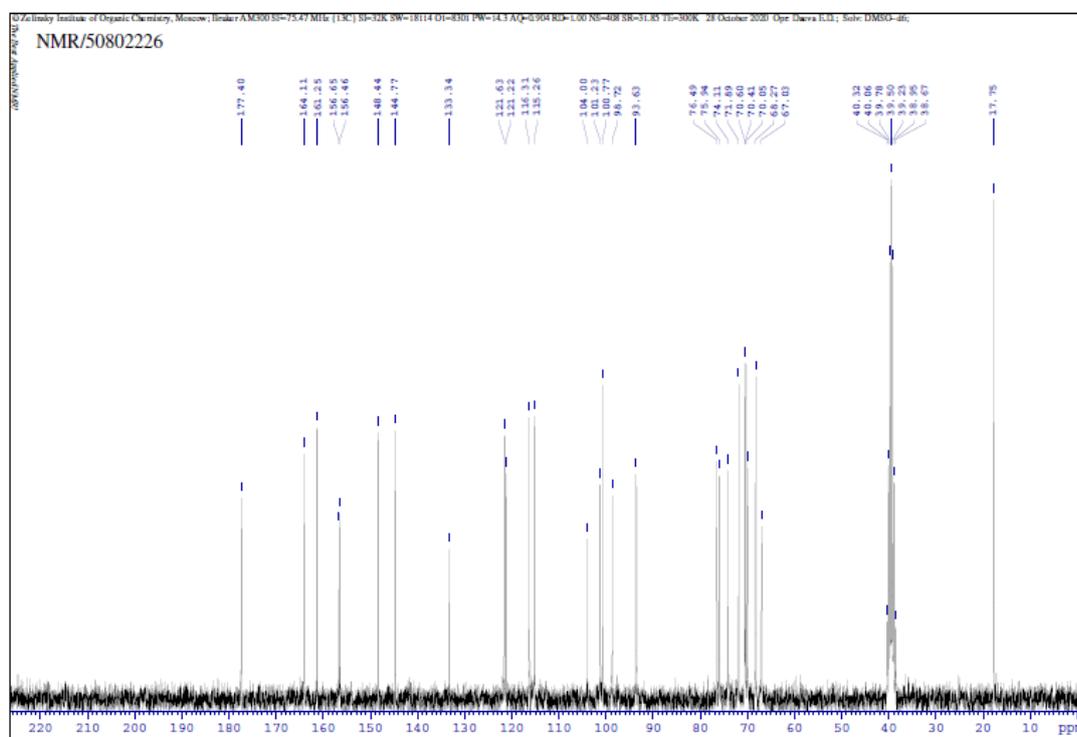


Рисунок 3 – масс-спектр актеозида(1)

Рисунок 4 - ^1H -ЯМР-спектр маннита (2) в DMSO-d_6 Рисунок 5 - ^{13}C -ЯМР-спектр рутина (3) в DMSO-d_6

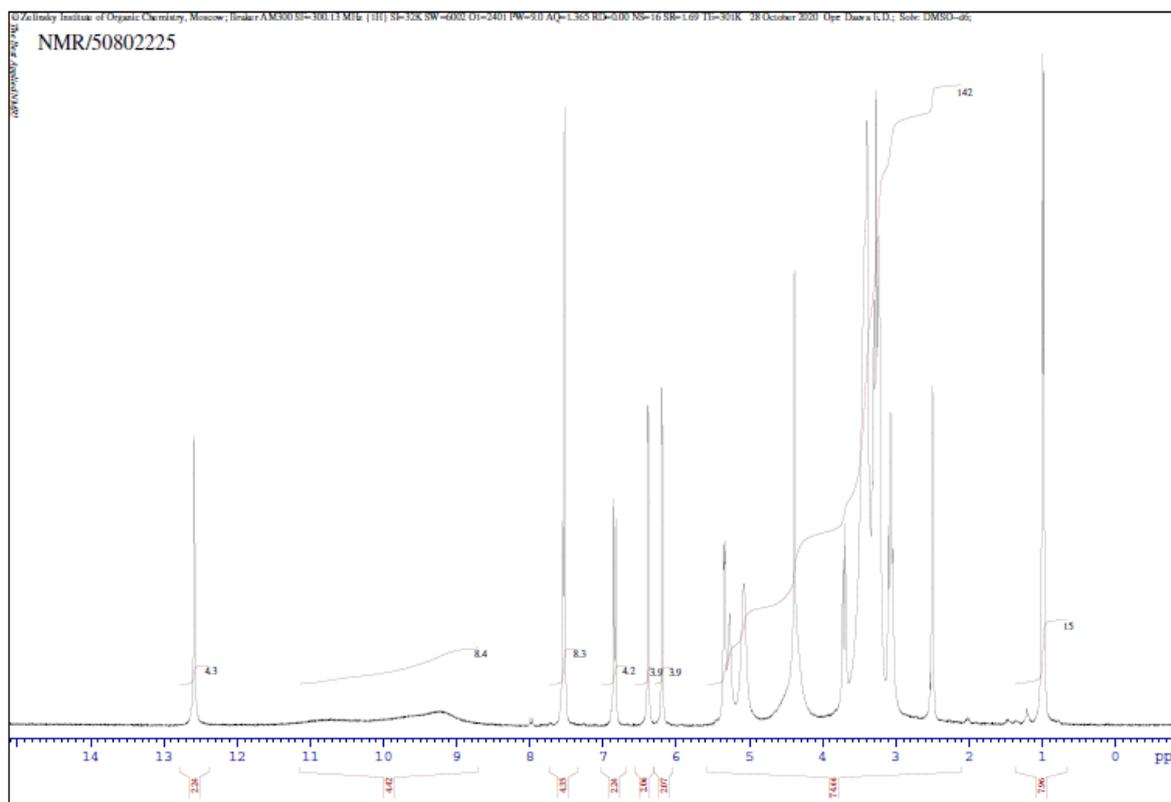


Рисунок 6 - ^1H -ЯМР-спектр рутина (3) в DMSO-d_6

Display Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Kolotyrykina\2020\Kurkin\1021020.d
Method tune_50-1600.m
Sample Name /NGKO SV-4
Comment C27H30O16 mH 611.1607 calibrant added H2O/CH3CN

Acquisition Date 21.10.2020 13:55:58

Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# micrOTOF 10248

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	1.0 Bar
Focus	Not active			Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set Capillary	4500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1600 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Divert Valve	Waste

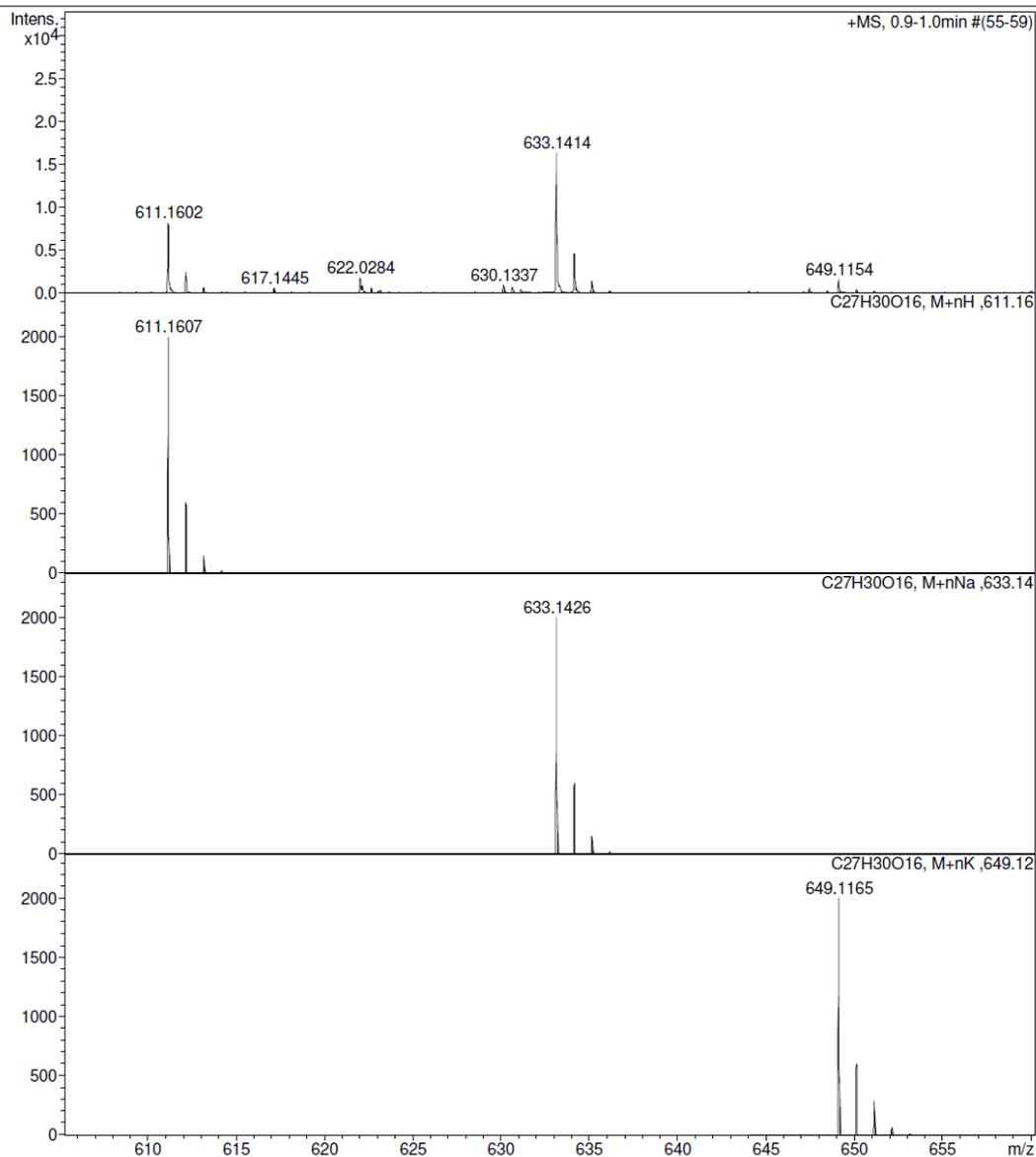


Рисунок 7 – масс-спектр рутина(3)

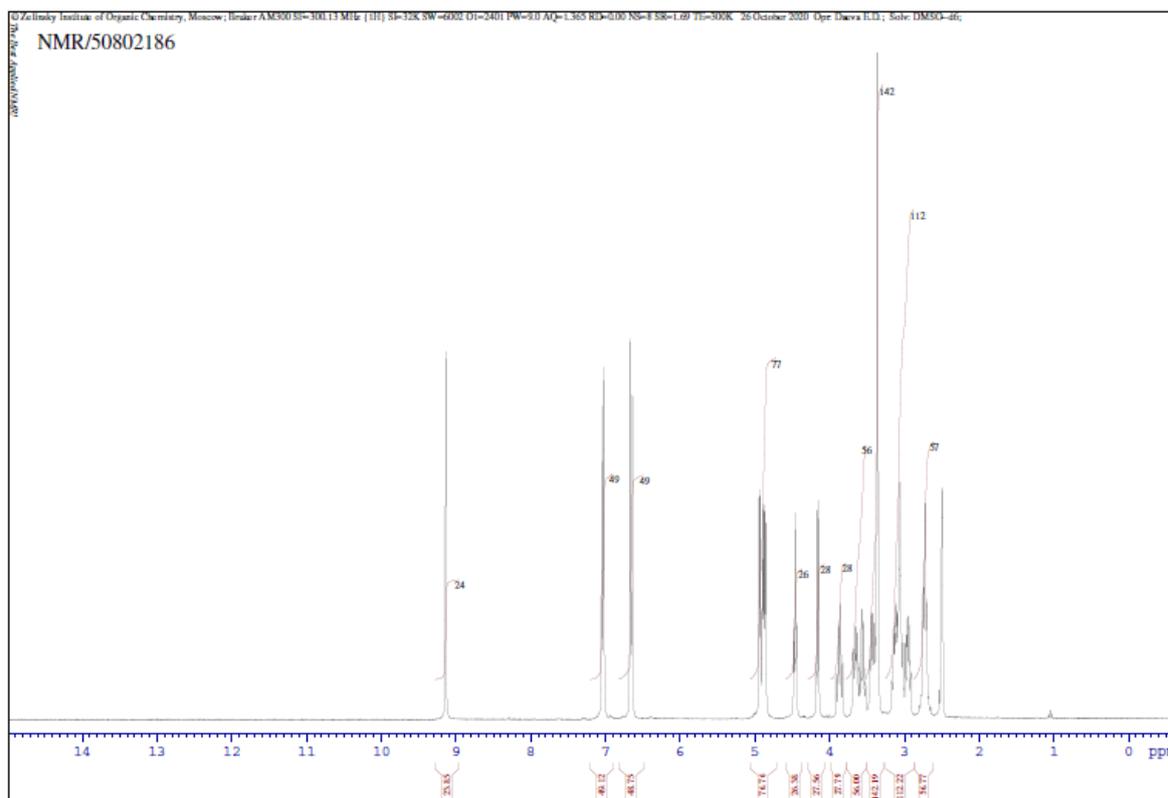


Рисунок 8 - ^1H -ЯМР-спектр салидрозида (5) в DMSO-d_6

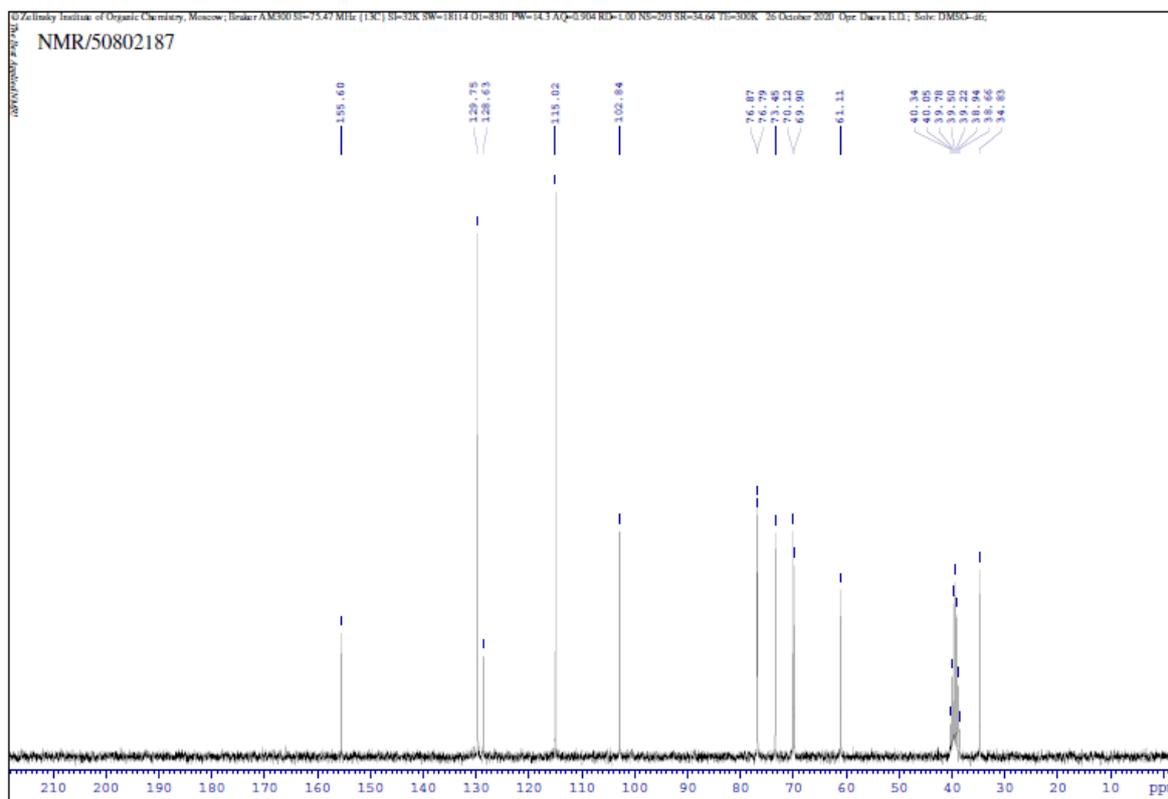


Рисунок 9 - ^{13}C -ЯМР-спектр салидрозида (5) в DMSO-d_6

Display Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Kolotyrkina\2020\Kurkin\1021018.d
Method tune_50-1600.m
Sample Name /NGKO SV-2
Comment C14H20O7 mH 301.1281 calibrant added H2O/CH3CN

Acquisition Date 21.10.2020 13:41:37

Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# micrOTOF 10248

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	1.0 Bar
Focus	Not active			Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set Capillary	4500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1600 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Divert Valve	Waste

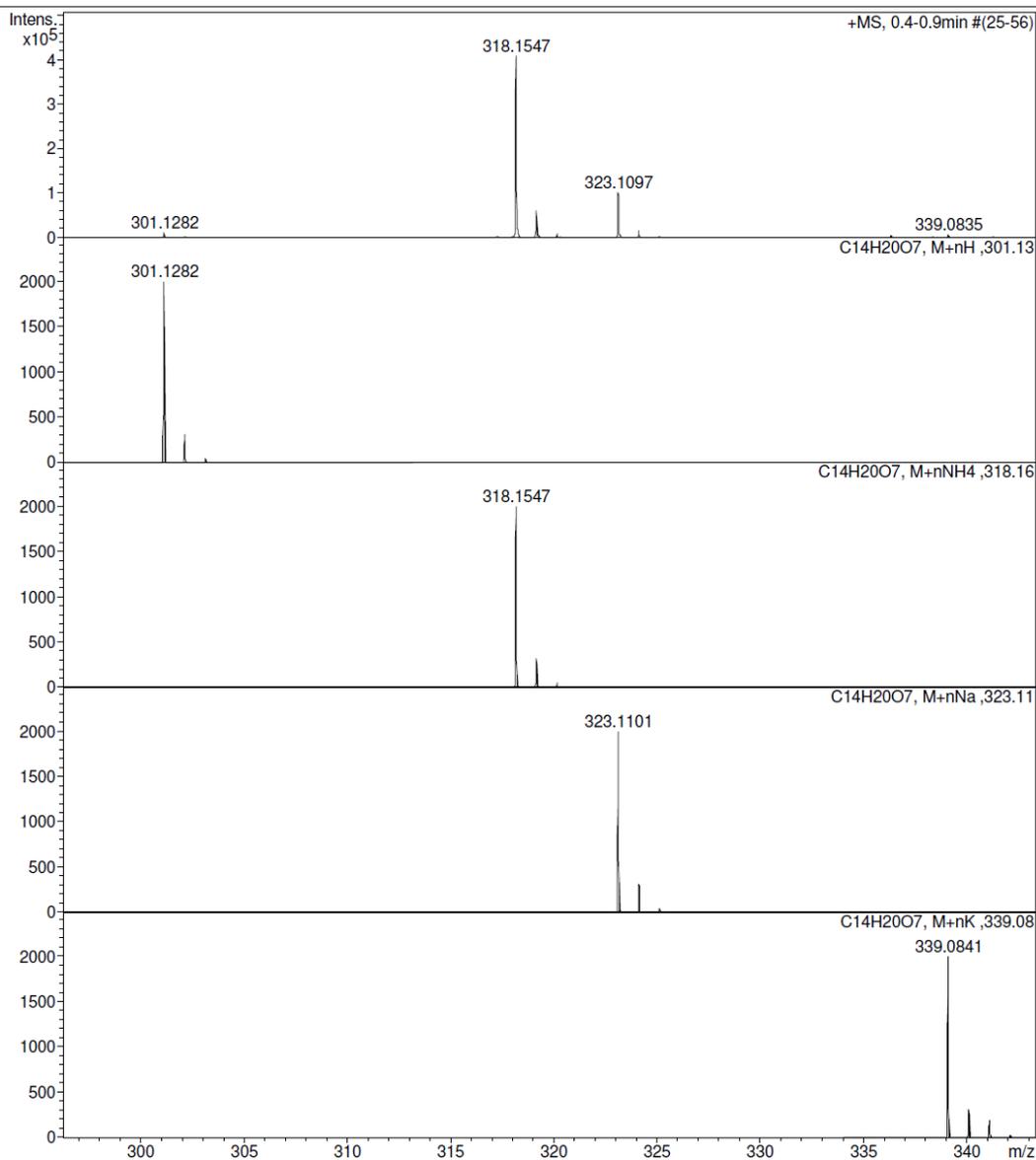


Рисунок 10 – масс-спектр салидрозида (5)

Приложение 4. Проект фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья «Сирени обыкновенной листья»

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

УТВЕРЖДАЮ

Директор Центра фармакопей и международного сотрудничества ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», доктор фармацевтических наук, профессор
_____ **Е.И. САКАНЯН**
«__» _____ 20__ г.

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА
ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ**

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Организация-разработчик: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Сирени обыкновенной листья	ФС 2.5. _____
<i>Syringae vulgaris folia</i>	вводится впервые

Срок введения установлен
с «__» _____ г.
до «__» _____ г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на собранные поздней весной, летом или ранней осенью и высушенные листья культивируемого кустарникового растения сирени обыкновенной – *Syringa vulgaris* L., семейства маслиновых - *Oleaceae*

ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Сирени обыкновенной листья

СПЕЦИФИКАЦИЯ

ПОКАЗАТЕЛИ	МЕТОДЫ	НОРМЫ
Внешние признаки	по ГФ XI, вып.1., с. 252 визуально, с помощью стереомикроскопа или лупы	Соответствует ФС
Микроскопия	ОФС 1.5.3.0003.15 Техника микроскопического и микрорентгеновского исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов	Соответствует описанию и рисункам ОФС
Качественные реакции	ОФС 1.2.1.2.0003.15. Тонкослойная хроматография	На хроматограмме должно быть пятно желто-оранжевого цвета (рутин).
Числовые показатели: -суммы флавоноидов и фенилпропаноидов в пересчете на СО рутина	УФ - спектр извлечения из сырья по ОФС 1.2.1.1.0003.15. Спектрофотометрия в УФ и видимой областях	не менее 2,0 %
-влажность	ОФС. 1.5.3.0007.15. Определение влажности лекарственного растительного сырья	не более 12 %
-зола общей	ОФС.1.2.2.2.0013.15. Зола общая	не более 5 %
-зола, нераств. в 10 % растворе кислоты хлористоводородной	ОФС. 1.5.3.0005.15. Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	не более 2 %
Количественное определение	Спектрофотометрия	См. разд. "Числовые показатели"
Микробиологическая чистота	ОФС. 1.2.4.0002.15. Микробиологическая чистота.	категория 4 А
Упаковка	ОФС. 1.1.0019.15. Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.	Не более 40 кг в мешки. Не более 25 кг в ящики.
Маркировка	ОФС. 1.1.0019.15. Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных	Соответствует ФС

	растительных препаратов.	
Хранение	ОФС. 1.1.0011.15 Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов	В сухом, защищенном от света месте
Срок годности		2 года

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. Цельное сырье. Листья супротивные, простые, 4 – 12 см длиной и 3—8 см шириной, у основания сердцевидные или прямо срезанные, к вершине заострённые, зелёные, голые, плотные, цельнокрайние, с черешками до 3 см длиной. Цвет листьев с верхней стороны – зелёный, коричневато-зелёный, с нижней стороны – светло-зелёный, серо-зелёный, светлый коричневато-зелёный. Запах своеобразный, слабо ароматный. Вкус водного извлечения горьковатый.

Измельченное сырье. При рассмотрении под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны кусочки листовых пластинок с мелкопильчатозубчатым или цельным краем, голые; кусочки черешков, редко – веточек с желтовато-белой древесиной и коричневой корой.

Цвет измельченного сырья от зеленого до коричневато-зеленого со светло-зелеными, серо-зелеными и редкими желтовато-коричневыми, желтовато-белыми или коричневыми вкраплениями.

Запах своеобразный, слабо ароматный. Вкус водного извлечения горьковатый.

Микроскопические признаки. Цельное сырье. Листовая пластинка дорсовентрального типа. В листьях столбчатая ткань состоит из одного ряда клеток; губчатая ткань и межклетники заметно выражены (рис. 1).

Клетки хлорофиллоносной ткани вытянутой формы, плотно прилегают друг к другу. Межклетники практически не выражены. Слабо выраженная губчатая паренхима располагается в основном в центре.

Главная жилка на поперечном срезе листа представлена проводящим пучком незамкнутого типа. Пучок армирован незамкнутым кольцом многослойной склеренхимы, охватывающей его дугой со стороны флоэмы (абаксиальная сторона) длинной дугой, со стороны ксилемы (адаксиальная сторона) заметно более короткой.

Вторичные жилки листовой пластинки, как правило, без склеренхимной обкладки.

По всей поверхности листа с верхней и нижней стороны наблюдаются погруженные железки из 5-8 клеток округлой формы.

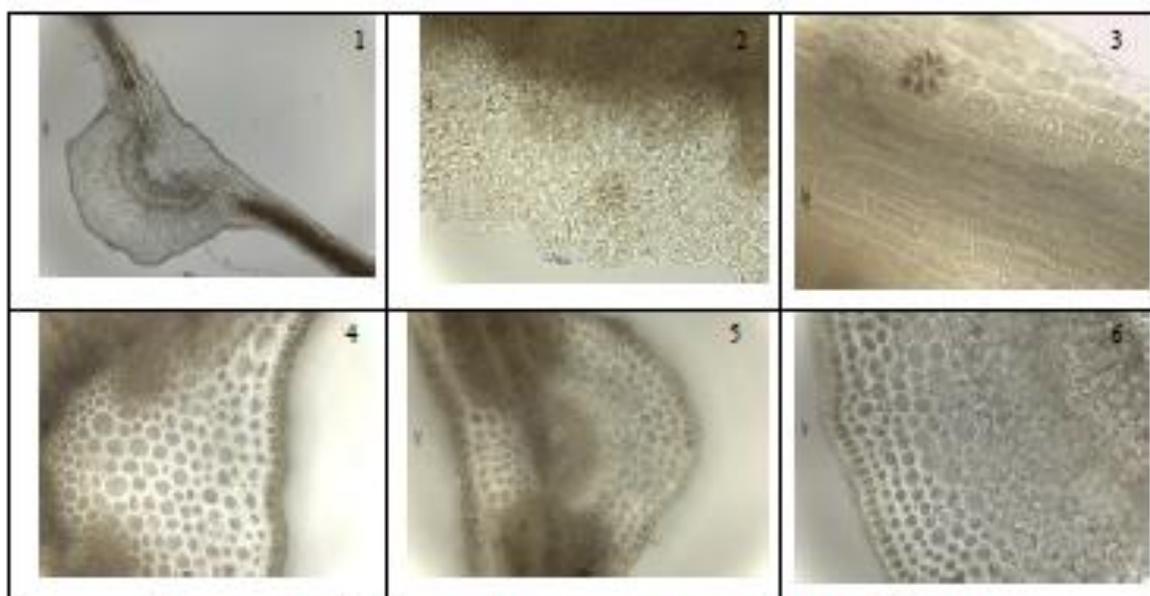


Рисунок 1 – Сирень обыкновенная пластинки. Обозначения:
 1 – фрагмент центральной жилки (100×); 2 – фрагмент нижнего эпидермиса с устьицами (400×); 3 – фрагмент верхнего эпидермиса (400×);
 4 – склеренхима пучка с адаксиальной стороны (400×); 5 – пучок второго порядка (400×); 6 – склеренхима пучка с абаксиальной стороны (400×).

Измельченное сырье. Клетки эпидермиса кусочков листьев с поверхности многоугольные, в центре их видны остатки протопласта. На поперечном срезе листа – клетки эпидермиса более или менее равносторонние, с сильно утолщенными наружными стенками и толстой

слоем кутикулы, выступающей в виде бугорков. Устьица погружены в мезофилл листа.

Проводящие элементы черешка собраны в один крупный открытый коллатеральный пучок, армированный с склеренхимными волокнами. Волокна собраны в группы с абаксиальной стороны по периферии пучка. С адаксиальной (верхней) стороны черешка располагается большая группа волокон, расположенных обособленно от склеренхимы кольца. На продольном сечении склеренхимные волокна сильно вытянуты, их стенки значительно утолщены и имеют заметные поровые каналы. Лубяная склеренхима отличается значительно меньшими размерами клеток на поперечном сечении и не одревесневшими волокнами.

Эпидерма черешка покрыта железками и редкими волосками. Клетки эпидермиса мелкие, стенки сильно утолщены и кутинизированы. Кутикула эпидермиса не монолитная, с поверхности заметно углублена по контурам клеток. Форма эпидермальных клеток одинаковая в продольном и поперечном сечениях. Ярко выражены ребра жесткости в адаксиальной части черешка.

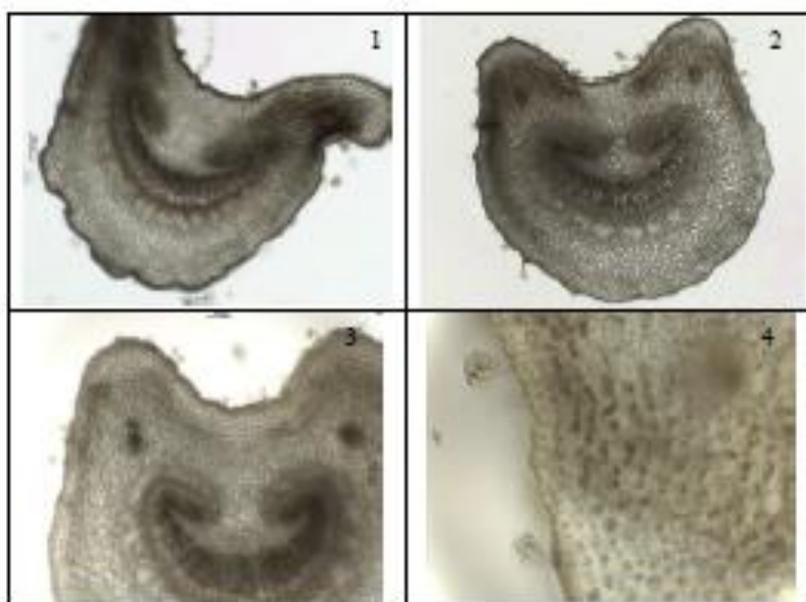


Рисунок 2 – Черешок листа сирени обыкновенной. Обозначения: 1 – апикальная часть черешка (100×); 2 – медиальная часть черешка (100×); 3 – базальная часть черешка (100×); 4 – головчатые железки (400×).

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография

Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, помещают в колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл спирта 70 % и нагревают с обратным холодильником при умеренном кипении на электроплитке с закрытой спиралью в течение 15 мин. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр с красной полосой (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10 × 15 см наносят 6 мкл испытуемого раствора, 10 мкл раствора стандартного образца (СО) рутина (см. раздел «Количественное определение» приготовление раствора А СО рутина). Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей хлороформ – спирт 96 % – вода (26:16:3), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм и 365 нм.

На хроматограмме раствора СО рутина при 365 нм должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета.

При просмотре при 254 нм обнаруживается 2 зоны адсорбции фиолетового цвета и 2 зоны адсорбции зелено-коричневого цвета. При просмотре при 365 нм обнаруживаются 2 зоны с красной флуоресценцией,

зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне СО рутина, зона адсорбции зелено-коричневого цвета и зона с голубой флуоресценцией.

После обработки спиртовым раствором $AlCl_3$ наблюдается усиление желтого окрашивания желтых зон на уровне СО рутина и на хроматограмме СО рутина.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 12 %.

Зола общая. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 5 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 2 %.

Измельченность сырья. *Измельченное сырье.* Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм, не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, не более 5 %;

Посторонние примеси

Сырье, изменившее окраску (потемневшее и почерневшее). *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 3 %.

Другие части растения (веточек, бутонов, плодов). *Цельное сырье, измельченное сырье* - не более 2 %

Органическая примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 0,5 %.

Минеральная примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 0,5 %.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и

лекарственных растительных препаратах».

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение.

Цельное сырье, измельченное сырье, порошок: сумма флавоноидов в пересчете на рутин – не менее 2 %.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях 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 50 мл 70 % 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, прибавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (испытуемый раствор А). Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 412 нм через 40 минут после приготовления. В качестве

раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 1 мл извлечения (1:50) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора спиртом этиловым 96% до метки.

Примечание: *Приготовление раствора рутина-стандартного образца.* Около 0,020 г (точная навеска) рутина 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 рутина). 1 мл раствора А рутина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (испытуемый раствор Б рутина). Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 412 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, который готовят следующим образом: 1 мл раствора А рутина помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (раствор сравнения Б рутина).

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * m_0 * 50 * 25 * 1 * 100 * 100}{D_0 * m * 50 * 25 * (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора ГСО рутина;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса ГСО рутина, г;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

В случае отсутствия стандартного образца рутина целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения – 240.

$$x = \frac{D \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 240 \cdot (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса ГСО рутин, г;

240 – удельный показатель поглощения ($E_{1\%}^{1\text{см}}$) ГСО рутин при 412 нм;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Проректор по научной работе,
лауреат премии Правительства РФ



доктор медицинских наук,
профессор
Давыдкин И.Л.

Заведующий кафедрой
фармакогнозии с ботаникой и
основами фитотерапии СамГМУ

доктор фармацевтических наук,
профессор
29.12.2021
Куркин В.А.

Аспирант кафедры фармакогнозии
с ботаникой и основами
фитотерапии

24.12.2024

Серебрякова А.Д.

Приложение 5. Патенты изобретений

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) **RU** (11) **2 747 483**⁽¹³⁾ **C1**(51) МПК
A61K 36/63 (2006.01)
G01N 21/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 36/63 (2021.02); *G01N 21/00* (2021.02)

(21)(22) Заявка: 2020133910, 14.10.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.10.2020

Дата регистрации:
05.05.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 14.10.2020

(45) Опубликовано: 05.05.2021 Бюл. № 13

Адрес для переписки:
443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89,
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Самарский государственный
медицинский университет" Министерства
здравоохранения Российской Федерации

(72) Автор(ы):
Куркин Владимир Александрович (RU),
Серебрякова Анастасия Дмитриевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Самарский государственный
медицинский университет" Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: КУРДЮКОВ Е.Е.,
Фармакогностическое исследование семян
льна и листьев стевии как компонентов
растительного сбора "СТЕЛИНОЛ", Пенза
2019, [найден онлайн], [дата обращения
08.02.2021], найдено из Интернета:
<https://www.samsmu.ru/files/referats/2019/kurdyukov/dissertation.pdf>, подтверждено (см.
прод.)

R U 2 7 4 7 4 8 3 C 1

R U 2 7 4 7 4 8 3 C 1

(54) СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЕНИЛПРОПАНОИДОВ В ЦВЕТКАХ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ

(57) Реферат:
Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности, а именно к способу количественного определения суммы фенилпропаноидов в цветках сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.). Способ количественного определения фенилпропаноидов, заключающийся в предварительном получении водно-спиртового извлечения из растительного сырья путем экстракции 1 г точной навески измельченного до размера частиц 1 мм растительного сырья 60% этиловым спиртом в течение 45 минут, в пересчете на вещество фенилпропаноидной природы, методом прямой спектрофотометрии в отношении «сырье-экстрагент» - 1:100, определение фенилпропаноидов проводят при длине волны 330 нм в пересчете на хлорогеновую кислоту,

содержание суммы фенилпропаноидов в пересчете на хлорогеновую кислоту, и абсолютно сухое сырье рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 100 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где X - содержание суммы фенилпропаноидов в пересчете на хлорогеновую кислоту, %; D - оптическая плотность испытуемого раствора; D₀ - оптическая плотность раствора Государственного стандартного образца хлорогеновой кислоты; m - масса сырья, г; m₀ - масса Государственного стандартного образца хлорогеновой кислоты, г; W - потеря в массе при высушивании, %; в случае отсутствия стандартного образца хлорогеновой кислоты

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2 752 316**⁽¹³⁾ **C1**

(51) МПК
A61K 36/63 (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01)
G01N 33/15 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 36/63 (2021.05); A61K 31/352 (2021.05); G01N 33/15 (2021.05)

(21)(22) Заявка: 2020133908, 14.10.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.10.2020Дата регистрации:
26.07.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 14.10.2020

(45) Опубликовано: 26.07.2021 Бюл. № 21

Адрес для переписки:

443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89,
 Федеральное государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Самарский государственный
 медицинский университет" Министерства
 здравоохранения Российской Федерации

(72) Автор(ы):

Куркин Владимир Александрович (RU),
 Серебрякова Анастасия Дмитриевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Самарский государственный
 медицинский университет" Министерства
 здравоохранения Российской Федерации
 (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: RU 2701726 C1, 01.10.2019. RU
 2669162 C1, 08.10.2018. RU 259016 C1, 10.10.2016.
 Л.А. ЛЮБАКОВСКАЯ и др. Фенольные
 соединения сирени *in vivo* и в культуре *in vitro*
 //ВЕСТНИК ВГМУ, 2010, Том 9, N1, стр.1-8.

(54) СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности и может быть использовано в центрах контроля качества лекарственных средств и контрольно-аналитических лабораториях при проведении количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.). Описан способ количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной путем получения водно-спиртового извлечения из растительного сырья экстракцией 1 г точной навески измельченного до размера частиц 1 мм растительного сырья 70%-ным этиловым спиртом с последующей пробоподготовкой и определением оптической плотности методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием стандартного образца рутина, а при его отсутствии - с использованием

теоретического удельного показателя поглощения, при этом экстракцию измельченных листьев сирени обыкновенной проводят в течение 45 мин при соотношении сырье: экстрагент 1:50; количественное определение суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной проводят при длине волны 412 нм в пересчете на рутин и содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье рассчитывают по формуле

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 50 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где x - содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %; D - оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 - оптическая плотность раствора Государственного стандартного образца рутина; m - масса сырья, г; m_0 - масса Государственного стандартного образца рутина.

Стр.: 1

RU 2 7 5 2 3 1 6 C 1

RU 2 7 5 2 3 1 6 C 1