

На правах рукописи

ВОЛКОВА НАДЕЖДА АЛЕКСАНДРОВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЫРЬЯ
ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *CRATAEGUS* L. КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО
ИСТОЧНИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Самара – 2023

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

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, доцент **Правдивцева Ольга Евгеньевна**

Официальные оппоненты:

Пупыкина Кира Александровна – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, профессор кафедры.

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

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

Защита состоится «___» _____ 2023 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке по адресу: 443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171 и на сайте (<https://samsmu.ru/scientists/science/referats/2023/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук, доцент

Жданова Алина Валитовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Лечение и профилактика хронических заболеваний человека являются одной из важных задач современной медицины. Особую актуальность приобретают в последнее время средства, способные оказывать действие на сердечно-сосудистую систему человека. Несмотря на обилие лекарственных средств (ЛС) для лечения данной патологии, большинство из них являются синтетическими препаратами. При этом известно, что для лечения хронических патологий в наибольшей мере зарекомендовали себя лекарственные препараты (ЛП), изготовленные на базе лекарственного растительного сырья (ЛРС). Такие средства в большей степени подходят для длительной по времени терапии, а также удобны при применении в качестве курсового лечения (Киселева Т.Л. и др., 2008; Куркин В.А., 2019; Кудашкина Н.В., 2009; Самылина И.А. и др., 2010).

Среди лекарственных растительных средств, обладающих кардиотоническими свойствами, наибольшее значение имеет сырье боярышника (*Crataegus* L., сем. Розоцветные – *Rosaceae*). В качестве источников сырья на текущий момент применяются 12 представителей рода Боярышник, однако природные ареалы многих из них находятся за пределами территории РФ. В основном используется сырье боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.) и боярышника однопестичного (*Crataegus monoqyna* Jacq.). Вместе с тем на территории нашей страны широко культивируется боярышник мягковатый (полумягкий) – *Crataegus submollis* Sarg., происходящий из Северной Америки. Следует отметить, что данный вид быстро входит в период плодоношения и отличается стабильным урожаем. Несмотря на то обстоятельство, что плоды боярышника мягковатого используются в пищу, химический состав его сырья до сих пор не изучен в должной мере.

Как известно, сырьем боярышника помимо плодов являются также цветки. Немаловажной проблемой является исследование возможности использования в медицинской практике листьев и цветущих побегов боярышника. При этом за рубежом применяются также листья с цветками боярышника (Морозова Т.В. и др., 2017; Сагарадзе В.А., 2019; Трофимова С.В. и др., 2011).

На основании Указа Президента Российской Федерации, датированном от 7 мая 2012 года о совершенствовании политики в сфере здравоохранения, важнейшая стратегическая миссия здравоохранения заключается в обеспечении населения государственными гарантиями осуществления квалифицированной медицинской помощи, а также предоставление гражданам лекарственных средств надлежащего качества с целью получения необходимого фармакологического эффекта.

Степень разработанности темы. На текущий момент в Государственную фармакопею РФ включены статьи «*Crataegi flores*» и «*Crataegi fructus*» на сырье боярышника, а также «*Crataegi fructi tinctura*», с содержанием не меньше 0,003% суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид. Причиной столь низкого показателя, на наш взгляд, является, с одной стороны, нерациональный подход к вопросу получения данного препарата, а с другой стороны неоптимальный подход к количественному анализу настойки плодов боярышника.

При этом *C. submollis* не является лекарственным растением в нашей стране. Морфолого-анатомическая характеристика, химический состав и фармакологические свойства различных видов сырья данного растения изучены в недостаточной степени.

В ряде стран находят применение листья боярышника. Часто они заготавливаются совместно с цветками боярышника. Следует отметить, что напрямую использование

зарубежного опыта невозможно, так как за рубежом превалирует сырье редких для РФ видов боярышника.

Возможность применения листьев боярышника показывают результаты исследований отечественных ученых (Морозова Т.В., 2019; Хасанова С.Р. 2013; Гусакова В.А. 2023). Исследовались возможности УФ-спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для листьев и цветков боярышника (Сагарадзе В.А. и др., 2018). Теми же авторами проведен сравнительный анатомо-морфологический анализ, позволяющий выявлять отличительные признаки цветущих побегов боярышника от примесных видов растений. При этом по-прежнему актуальность имеет работа по изучению возможности создания новых лекарственных препаратов на основе сырья боярышника, обладающих способностью как лечить, так и проводить профилактику заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Цель работы и основные задачи исследования. Цель данной научной работы представляет собой проведение фармакогностического изучения потенциально перспективного сырья представителей рода *Crataegus* L.

В связи с поставленной целью в рамках данного диссертационного исследования были определены следующие задачи:

1. Морфолого-гистологический анализ особенностей цветущих побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* в сравнительном аспекте.

2. Фитохимическое исследование цветущих побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* в сравнительном аспекте, с целью изучения подходов к стандартизации сырья и лекарственных средств на их основе.

3. Фитохимическое исследование состава листьев *C. submollis* методом адсорбционной колоночной хроматографии с выделением и идентификацией индивидуальных соединений.

4. Разработка подходов к стандартизации густых экстрактов на основе высушенных цветущих побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*.

5. Изучение фармакологических свойств густых экстрактов, изготовленных из побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*.

6. Обоснование возможности создания и подходов к анализу твердых лекарственных форм, изготовленных из густых экстрактов побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*, а также оптимизация процесса получения препарата «Боярышника плодов настойка».

7. Подготовка проектов фармакопейных статей (ФС) на побеги *C. sanguinea* и *C. submollis*, а также на густые экстракты, изготовленные из побегов *C. sanguinea* и *C. submollis*.

Научная новизна. Изучение особенностей морфологии и гистологии, в том числе с применением люминесцентной микроскопии, цветущих побегов (цветков с листьями) боярышника *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* показало, что к числу отличительных признаков побегов боярышника мягковатого относятся обильное опушение, а также наличие железистых волосков на чашелистиках.

Из листьев *Crataegus submollis* Sarg. впервые были выделены индивидуальные вещества. Данные индивидуальные соединения были изучены с помощью УФ, ¹H-ЯМР- ¹³C-ЯМР- и спектрометрии. Также для идентификации веществ был использован кислотный гидролиз. Установлено, что данные соединения имеют флавоноидную природу и идентифицированы как гиперозид, изокверцитрин и кверцитрин.

На основе побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* были получены густые экстракты, для которых разработаны подходы к стандартизации. В дополнение к этому были

проведены исследования фармакологической активности для густых экстрактов цветущих побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*, что позволило обнаружить наличие антидепрессантного действия. Для густого экстракта побегов боярышника кроваво-красного и боярышника мягковатого была определена креатининуретическая активность. Также была возможность получения сыпучих масс для прессования таблеток, изготовленных из густых экстрактов побегов боярышника.

Предложен подход по оптимизации процесса получения препарата «Боярышника плодов настойка», который заключается в использовании измельченных плодов боярышника мягковатого и соотношения для экстракции 1:5.

Результаты диссертационного исследования положены в основу создания нормативной документации, регламентирующей качество побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*, а также густых экстрактов, изготовленных из них.

Теоретическая и практическая значимость.

Выполнено микроскопическое исследование особенностей анатомии и гистологии цветущих побегов (цветков и с листьями) *C. submollis* в сравнительном аспекте с побегами *C. sanguinea* и *C. monogyna*. Также был исследован химический состав высушенных на воздухе листьев *C. submollis* методом адсорбционной хроматографии.

Предложены подходы к стандартизации густых экстрактов цветущих побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*, заключающиеся в использовании тонкослойной хроматографии (качественный анализ) и дифференциальной спектрофотометрии (количественный анализ).

Обнаружено проявление антидепрессантной активности для густых экстрактов цветущих побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*, а также выявлена креатининуретическая активность для густых экстрактов побегов *C. sanguinea* и *C. submollis*. Изучены подходы к анализу сыпучих масс для прессования таблеток, полученных из густых экстрактов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*.

Приобретенные в процессе изучения результаты легли в основу базисных знаний и используются при проведении занятий и лекций на кафедре химии Института фармации, фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, фармацевтической технологии с курсом биотехнологий, управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, а также применяются в процессе производства предприятия ЗАО «Самаралектравы» и в рабочем процессе ГБУЗ «Центра контроля качества лекарственных средств Самарской области».

Методология и методы исследования.

Методология, на которую опирается диссертационная работа, базируется на систематизации данных научной литературы, и формулировании результатов исследований. Изучение нового вида лекарственного растительного сырья, представляющего собой цветущие побеги боярышника, проводилось преимущественно в сравнительном аспекте.

Объектами диссертационного исследования являлись экземпляры воздушно-сухих побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*, а также их частей (листьев и цветков). В ходе исследования применялись образцы потенциальных лекарственных препаратов, которые были получены в условиях лаборатории на основе изучаемого сырья. В качестве образцов сравнения, были использованы также фабричные экземпляры препарата «Боярышника плодов настойка». При изучении морфолого-гистологических свойств сырья боярышника использовались цифровая микроскопия и люминесцентная микроскопия. Применялись

методы разделения веществ: хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ). В ходе эксперимента использовались спектральные методы анализа: ультрафиолетовая спектрофотометрия, спектроскопия с применением ядерного магнитного резонанса, масс-спектрометрический анализ. Кроме того, при проведении диссертационного исследования применялись специфические реакции для определения некоторых групп фенольных структур.

С целью обработки результатов, которые были сформулированы по результатам написания работы, статистическими измерениями был использован пакет прикладных программ, представленный в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV.

Связь задач исследования с планами научных работ. Данные представляемого исследования были получены строго в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. НИОКР – «Химико-фармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» (с 14.05.2019 № Гос. регистрации АААА-А19-119051490148-7).

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Результаты анализа морфолого-гистологических особенностей побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* в сравнительном аспекте.

2. Результаты фитохимического исследования цветущих побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*, а также их частей с целью изучения подходов к стандартизации сырья и лекарственных средств на их основе.

3. Результаты проведенного фитохимического изучения состава листьев *C. submollis* с применением адсорбционной колоночной хроматографии, выделения отдельных веществ и установления их состава.

4. Разработанные подходы к стандартизации густых экстрактов на основе высушенных цветущих побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* и подходов к их стандартизации.

5. Результаты изучения фармакологических свойств густых экстрактов на основе побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*.

6. Разработанные подходы к стандартизации твердых лекарственных форм, изготовленных из густых экстрактов побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*, а также результаты оптимизации процесса получения препарата «Боярышника плодов настойка».

7. Проекты фармакопейных статей, описывающих критерии качества ЛРС «Боярышника мягковатого (полумягкого) побеги», «Боярышника кроваво-красного побеги», ЛРП «Боярышника мягковатого побегов экстракт густой», «Боярышника кроваво-красного побегов экстракт густой».

Степень достоверности. Достоверность полученных исследований подтверждена данными, полученными с помощью результатов современных морфолого-анатомических, химических, физико-химических и спектральных методов анализа.

Апробация работы. Международная конференция «Современные достижения фармацевтической науки и практики» (г. Витебск, 2019); VII Научная конференция «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» (г. Москва, 2019, 2020); Международная научная конференция «От растения до лекарственного препарата» (г. Москва, 2020); конференция «Аспирантские чтения» (г. Самара, 2020; 2021; 2022); III Межвузовская научно-практическая конференция «Современные проблемы фармакогнозии» (г. Самара, 2018); XI Международный симпозиум «Фенольные соединения: фундаментальные и

прикладные аспекты» (г. Москва, 2022); IV Межвузовская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 100-летию Самарского государственного медицинского университета (г. Самара, 2019); Международная научная конференция «От растения до лекарственного препарата» (г. Москва, 2020); Научно-практическая онлайн-конференция с международным участием, посвященная 50-летию фармацевтического образования (г. Самара, 2021); Научная конференция «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (г. Томск, 2021); 8-ая Международная научно-методическая конференция «Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств» (г. Воронеж, 2022); «Природные соединения и здоровье человека» всероссийская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых с международным участием (г. Иркутск, 2022); Научно-практическая конференция международным участием «Актуальные проблемы химической безопасности в сфере фармацевтической и медицинской науки и практики» (г. Пермь, 2022).

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 36 научных работ, включая 1 монографию, 7 статей в журналах, рекомендуемых ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, из них 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе данных «Scopus»; получен 1 патент Российской Федерации на изобретение.

Внедрение результатов исследования. Результаты данной научной работы используются в учебном процессе кафедр Института фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, а также применяются при производстве лекарственных средств предприятия ЗАО «Самаралектравы» и в рабочем процессе ГБУЗ «Центра контроля качества лекарственных средств Самарской области».

Личный вклад автора. Все результаты исследований, описанные в диссертации, были получены автором лично, либо при его непосредственном участии. Было проведено сравнительное морфолого-гистологическое и фитохимическое исследование побегов и их отдельных частей, для некоторых видов рода *Crataegus* L. Также разработаны подходы к созданию и методики стандартизации густых экстрактов побегов боярышника, а также показан способ оптимизации препарата «Боярышника плодов настойка».

Автором были разработаны проекты ФС «Боярышника мягковатого (полумягкого) побеги», «Боярышника кроваво-красного побеги», «Боярышника мягковатого побегов экстракт густой», «Боярышника кроваво-красного побегов экстракт густой».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Основные положения, описанные в данной работе, соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) по пункту 2 «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств»; 3 пункту «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления»; 5 пункту «Изучение вопросов рационального использования ресурсов лекарственного растительного сырья с учетом влияния различных факторов на накопление биологически активных веществ в сырье» и 6 пункту «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 187 страницах машинописного текста, в ней присутствуют 24 таблицы и 43 рисунка. Она объединяет в себе введение, обзор литературы, представление объектов и методов, используемых в ходе проведения эксперимента, а также четыре главы, посвященные изложению результатов научных экспериментов, а также заключение и список литературы, имеющий в своем составе 157 источника, из которых 26 на иностранных языках.

Глава 1 содержит краткую характеристику проработки выбранной тематики в источниках отечественной и зарубежной литературы. Данный раздел работы раскрывает имеющиеся данные, которые подробно объясняют уже проведенные исследования фармакологической активности, фитохимических свойств различных видов *Crataegus* L. Здесь разъяснены важные задачи по реализации потенциала новых видов сырья представителей данного рода и разработке действенных лекарственных препаратов, базирующихся на нем.

Глава 2 включает в себя краткую информацию об области деятельности исследования, описаны способы, с помощью которых было осуществлено данное изучение сырья представителей *Crataegus* L.

Глава 3 представляет собой результаты исследования по микроскопии цветков с листьями *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* при использовании метода люминесцентной и световой микроскопии в сравнительном аспекте. Кроме того, автором описывается детальная петиолярная анатомия черешка листа боярышника мягковатого.

Глава 4 описывает результаты исследований листьев боярышника мягковатого методом колоночной хроматографии. Кроме того, приведены результаты идентификации и установления структуры *C. submollis*.

В главе 5 обсуждаются результаты экспериментальных разработок подходов к определению компонентного состава и количественного содержания доминирующих веществ для цветущих побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* и их отдельных частей, а также густых экстрактов на их основе.

Глава 6 посвящена описанию возможностей использования сырья *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* в медицинской практике в качестве фитопрепаратов.

Завершением данной работы является заключение, которое отображается обобщение итогов выполненного исследования, а также приводится перечень используемых литературных источников, на какие опирался автор и приложением.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Объектами данной диссертационной работы являлись образцы сырья – листья, побеги, цветки, а также плоды боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.), боярышника однопестичного (*Crataegus monogyna* Jacq.), боярышника мягковатого (*Crataegus submollis* Sarg.), собранные в период с 2019 по 2022 гг. на территории Ботанического сада Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева (Самарский университет), на территории Самарской области. Следует отметить, что мы взяли 2 дикорастущих вида боярышника (боярышник кроваво-красный и боярышник однопестичный), типичных для РФ и один вид, который широко культивируется на территории РФ (боярышник мягковатый).

В рамках диссертационной работы исследовались густые экстракты побегов боярышника кроваво-красного, боярышника мягковатого, боярышника однопестичного, извлечения из листьев, цветков, побегов боярышника кроваво-красного, боярышника мягковатого, боярышника однопестичного, настойка на основе плодов боярышника мягковатого (на 70% этиловом спирте).

Морфолого-анатомическое исследование осуществляли с использованием бинокля «Motic DM-39C-N9GO-A», цифрового микроскопа Carl Zeiss Primo Star 415500-0057-000, люминесцентного микроскопа Альтами-ЛЮМ-2 с увеличениями x4, x10, x40, x100.

Изучение химического состава листьев боярышника мягковатого проводили методом адсорбционной жидкостной колоночной хроматографии с использованием силикагеля марки L 40/100 мкм (Чехия), сефадекс LH-20 (Швеция) и полиамида марки «Wolem» (Германия). Для исследования извлечений из изучаемого сырья, выделенных веществ и разработанных потенциальных лекарственных растительных препаратов методом тонкослойной хроматографии использовали пластинки «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» и «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ» (Россия). Спектрофотометрическое исследование извлечений из сырья и разработанных потенциальных препаратов проводили на спектрофотометре «Specord 40» (Analytik Jena) в кюветках с толщиной слоя 10 мм в диапазоне длин волн от 190 нм до 700 нм. Спектры ЯМР ^1H получали на приборе «JNM-ECX 400» (399.78 МГц), спектры ЯМР ^{13}C – на приборе «JNM-ECX 400» (100.52 МГц). Масс-спектры высокого разрешения были зарегистрированы на приборе Bruker micrOTOF II методом электрораспылительной ионизации (ESI).

С использованием фармакологических методов анализа проводилось исследование диуретической и антидепрессантной активности на белых беспородных крысах обоего пола.

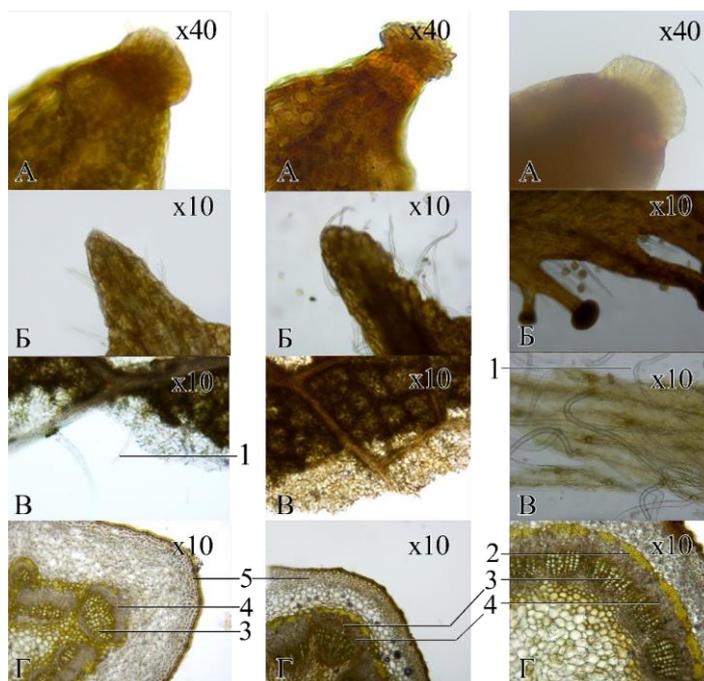
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Сравнительный морфолого-анатомический анализ побегов некоторых представителей рода *Crataegus* L., собранных в фазу цветения

Такой вид сырья, как цветущие побеги, представляют собой смесь верхушки побегов, включая листовые пластины, черешки и их части, молодые стебли, у которых не сформировалась древесина первичной коры, цветки, иногда бутоны и незначительное количество других частей: прилистников, прицветников, отдельных лепестков и тычиночных нитей. При этом, чаще всего в сырье преобладают листья.

При рассмотрении верхнего эпидермиса листовых пластинок хорошо заметны многоугольные клетки со слабоизвилистой клеточной стенкой и четковидными утолщениями (рис. 1). На обеих сторонах листа встречаются простые тонкостенные волоски, по краю листа, на верхушках зубцов лопастей, можно заметить сидячие железки с коричневым содержимым, наиболее развитые у боярышника кроваво-красного и мягковатого.

Прилистники у всех трех видов боярышника по краям имеют головчатые железки с коричневым содержимым и простые волоски. Наиболее многочисленные волоски и железки находятся по краям прилистника боярышника мягковатого.



Побеги *C. sanguinea* Побеги *C. monogyna* Побеги *C. submollis*

Рисунок 1 – Сравнительные микроскопические признаки листьев и стеблей побегов боярышника кроваво-красного, боярышника однопестичного и боярышника мягковатого:

А – Железка по краю листа; Б – Край чашелистика; В – Эпидермис нижней части листа;

Г – Поперечный срез стебля, окрашенный раствором сернокислого анилина.

Обозначения: 1 – трихома; 2 – склеренхима; 3 – ксилема; 4 – флоэма; 5 – колленхима.

Эпидермис стебля состоит из плотно сомкнутых вытянутых клеток, на которых начинают формироваться чечевички. Стебель покрыт простыми волосками, на поперечном срезе под слоем эпидермиса, заметен слой уголкового колленхимы. В основной паренхиме легко заметны открытые коллатеральные пучки, расположенные в центре органа по кругу. Пучки армированы со стороны флоэмы слоем склеренхимы.

Представляет интерес также детализированная петиолярная анатомия черешка боярышника мягковатого (рис. 2). Базальная часть черешка боярышника мягковатого на поперечном сечении овальная с незначительной ребристостью по контуру. В медиальной части очертания черешка принимают четырехугольную форму и ребристость уже прослеживается четко. В апикальной части можно заметить четко выраженную ребристость по контуру. На протяжении всего черешка с верхней и нижней стороны имеется обильное опушение простыми волосками.

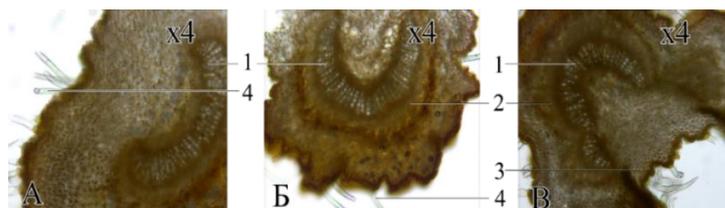


Рисунок 2 – Поперечный срез черешка листа боярышника мягковатого:

А – Поперечный срез черешка листа, базальная часть; Б – Поперечный срез черешка листа медиальная часть; В – Поперечный срез черешка листа апикальная часть.

Обозначения: 1 – ксилема; 2 – флоэма; 3 – колленхима; 4 – волоски.

Побеги боярышника мягковатого отличаются от побегов боярышника кроваво-красного и боярышника однопестичного тем, что имеют наиболее значительное опушение и характерные железки по краю чашелистиков.

2. Разработка методик качественного анализа

Ведущей группой биологически активных соединений сырья боярышника являются флавоноиды. Так, в плодах боярышника преобладают восстановленные формы флавоноидов, в время как в листьях, цветках и побегах доминируют их окисленные формы.

Результаты сравнительного анализа цветков методом тонкослойной хроматографии показывают, что в цветках всех трех видов боярышника содержатся флавоноид гиперозид и фенилпропаноид хлорогеновая кислота (при хроматографировании в системе хлороформ-этанол-вода 26:16:3 на пластинках Сорбфил-ПТСХ-АФ-Ф-УФ).

Анализ извлечений из листьев и побегов, проведенный методом ТСХ, показал, что аналогичные виды сырья у одинаковых видов имеют похожий флавоноидный состав. Для извлечений из листьев и побегов боярышника, как и в случае цветков, также характерным является наличие флавоноидов и хлорогеновой кислоты. При этом листья и побеги разных видов боярышника, значительно отличаются друг от друга по флавоноидному составу. В листьях и цветущих побегах боярышника мягковатого преобладает гиперозид, в то время как в аналогичных видах сырья боярышника кроваво-красного доминирующим флавоноидом является 2''-О-рамнозид витексина. В листьях и побегах боярышника однопестичного отмечается содержание доминирующего флавоноида, который проявляется в УФ свете при длине волны 254 нм на уровне раствора стандартного образца рутина. Однако при проявлении в УФ при длине 366 нм и проявлении раствором алюминия хлорида и диазобензолсульфоокислоты пятно исследуемого флавоноида имеет окраску иную, чем рутин.

Сравнительный анализ кривых поглощения извлечений из цветков Боярышника также указывает на незначительные отличия в характере кривых поглощения трех видов боярышника, что свидетельствует о сходстве химического состава изучаемого сырья (рис. 3). Максимумы поглощения дифференциальных кривых поглощения извлечений из цветков боярышника лежат в пределах 406-412 нм, что соответствует гиперозиду – доминирующему флавоноиду цветков боярышника. Следовательно, цветки боярышника мягковатого идентичны по составу цветкам дикорастущих для РФ видов боярышника, а также другим фармакопейным видам боярышника.

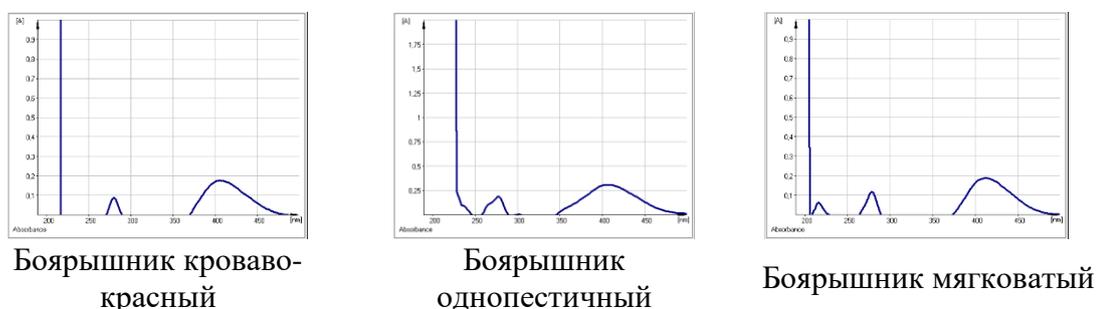


Рисунок 3 – УФ-спектры водно-спиртовых извлечений из цветков боярышника (дифференциальный вариант)

Сравнительный анализ электронных спектров извлечений из листьев Боярышника напоминает кривые поглощения извлечений из побегов аналогичных видов боярышника (рис.

4, 5). При этом на электронных спектрах можно заметить отличительные видовые признаки сырья, которые заключаются в том, что максимумы для кривых поглощения в присутствии раствора алюминия хлорида у извлечений из листьев и побегов боярышника кроваво-красного и боярышника однопестичного лежат в области 392 ± 2 нм. Этот факт также свидетельствует в пользу того, что доминирующим флавоноидом листьев и побегов боярышника однопестичного является не рутин и не гиперозид, а предположительно, флавоноид флавоновой природы. При этом для извлечений из листьев и побегов боярышника мягковатого максимум составляет 412 ± 2 нм, что соответствует гиперозиду.

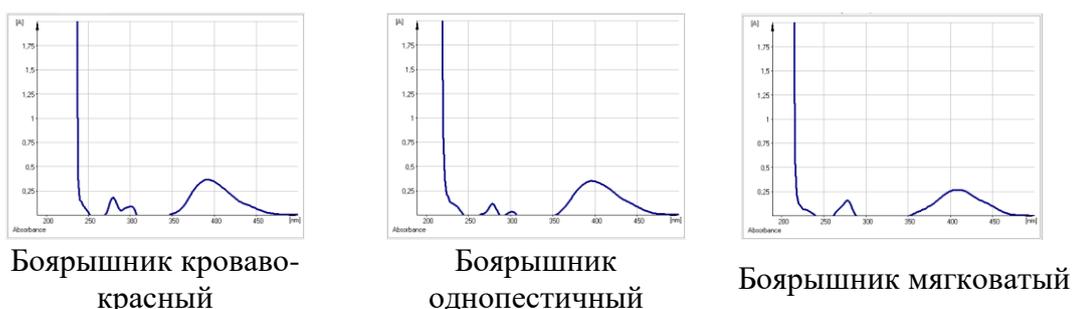


Рисунок 4 – УФ-спектры водно-спиртовых извлечений из листьев боярышника (дифференциальный вариант)

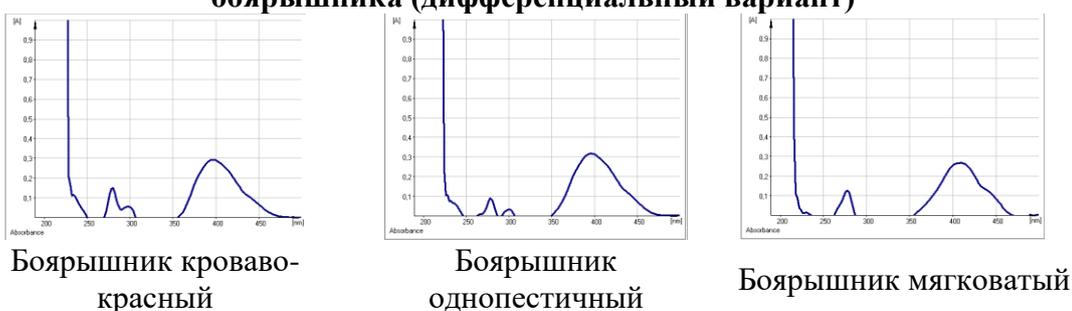


Рисунок 5 – УФ-спектры водно-спиртовых извлечений из побегов боярышника (дифференциальный вариант)

Для целей качественного анализа была использована высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). В качестве подвижной фазы использовалась смесь ацетонитрил:вода в различных соотношениях с подкислением 1% уксусной кислотой). Детекция осуществлялась при длине волны 360 нм. Применялся четырехступенчатый градиентный режим со следующим соотношением ацетонитрила и воды: 2:8 – 500 мкл, 3:7 – 500 мкл, 5:5 – 600 мкл, 7:3 – 400 мкл.

С целью сравнительного анализа нами был проведен ВЭЖХ-анализ извлечений из листьев боярышника кроваво-красного, боярышника мягковатого и боярышника однопестичного. Установлено время удерживания флавоноидов (табл. 1).

Таблица 1 – Результаты анализа извлечения из листьев боярышника методом ВЭЖХ

Время удерживания, мин.	2''-О-рамнозид витексина	Гиперозид	Рутин
Индивидуальные вещества	8,32	7,71	7,38
В извлечении <i>C. sanguinea</i>	8,95	8,14	7,55
В извлечении <i>C. submollis</i>	-	8,42	-
В извлечении <i>C. monogyna</i>	-	7,95	-

В результате данного исследования было еще раз отмечено, что доминирующим флавоноидом листьев боярышника кроваво-красного является 2''-О-рамнозида витексин, а для

листьев боярышника мягковатого характерен гиперозид. При этом извлечение из листьев боярышника однопестичного не содержит флавоноиды рутин и гиперозид в значительном количестве.

В результате анализа методом ТСХ, спектрофотометрии и ВЭЖХ установлено, что побеги боярышника кроваво-красного, однопестичного и мягковатого отличаются по химическому составу. Следовательно, применение одинакового подхода к методикам количественного анализа в отношении цветущих побегов разных видов растений рода Боярышник следует считать нецелесообразным.

3. Изучение подходов к анализу густых экстрактов на основе побегов боярышника

На основе побегов боярышника кроваво-красного, боярышника однопестичного и боярышника мягковатого методом бисмацерации с последующим упариванием на роторном испарителе под вакуумом нами были получены густые экстракты. Во всех трех густых экстрактах нами была определена сумма флавоноидов в пересчете на гиперозид и на 2''-О-рамнозид витексина методом дифференциальной спектрофотометрии. За основу методики взяты подходы, разработанные ранее для сырья и жидких экстрактов побегов боярышника. Результаты проведенного анализа приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание флавоноидов в густых экстрактах, полученных на основе побегов боярышника

№ п/п	Образец	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина, %	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, %
1	Густой экстракт побегов <i>C. sanguinea</i>	4,16±0,21	3,44±0,17
2	Густой экстракт побегов <i>C. monogyna</i>	4,97±0,25	4,01±0,20
3	Густой экстракт побегов <i>C. submollis</i>	1,60±0,08	2,67±0,05

При этом все данные мы приводим в сравнительном аспекте. Для побегов боярышника кроваво-красного целесообразным, на наш взгляд, является подход, оценивающий содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина (длина волны 392 нм), а для побегов боярышника мягковатого в пересчете на гиперозид (при длине волны 412 нм). Из представленных результатов следует, что наиболее высокое содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид и 2''-О-рамнозид витексина присутствует в густом экстракте побегов боярышника однопестичного. Однако, на наш взгляд, эти данные не в полной мере объективны, так как оба флавоноида присутствуют в сырье в незначительных количествах. Причем в густых экстрактах побегов боярышника кроваво-красного и боярышника однопестичного содержание флавоноидов в пересчете на гиперозид превышает содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина. При этом в густом экстракте побегов боярышника мягковатого содержание флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина выше, чем содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид. Это еще раз подтверждает тот факт, что в листьях и побегах боярышника кроваво-красного доминирует 2''-О-рамнозид витексина, а в побегах и листьях боярышника мягковатого – гиперозид.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид в густом экстракте побегов боярышника

Около 0,05 г густого экстракта (точная навеска) помещают в мерную колбу на 25 мл и приливают 15 мл 70% спирта этилового. Колбу помещают на кипящую водяную баню и

нагревают при взбалтывании до растворения экстракта. После чего колбу охлаждают и доводят до метки 70% спиртом этиловым и перемешивают (раствор А).

Исследуемый раствор получают, помещая 5 мл раствора А в мерную колбу на 25 мл, прибавляя 1 мл спиртового раствора алюминия хлорида и доводя 70% этиловым спиртом до метки. Раствор сравнения получают следующим образом: 5 мл раствора А помещают в колбу на 25 мл и доводят 70% спиртом этиловым до метки и перемешивают.

Для расчета содержания суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид проводят измерение оптической плотности при длине волны 412 нм через 40 мин после приготовления всех растворов. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times 25}{330 \times m \times 5};$$

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

330 – удельный показатель поглощения гиперозида;

m – масса густого экстракта, в граммах.

Для расчета содержания суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина проводят измерение оптической плотности при длине волны 392 нм через 40 мин после приготовления всех растворов. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times 25}{232 \times m \times 5};$$

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

232 – удельный показатель поглощения 2''-О-рамнозид витексина;

m – масса густого экстракта, в граммах.

Валидационная оценка разработанных методик количественного анализа побегов боярышника проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность. Метрологические показатели методик представлены в таблицах 3, 4.

Специфичность методики для количественной оценки суммы флавоноидов в густом экстракте побегов боярышника мягковатого в пересчете на гиперозид определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов густого экстракта из побегов боярышника полумягкого и гиперозида. Линейность методики определяли для серии растворов гиперозида (с концентрациями в диапазоне от 0,00033 до 0,00293 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0,99997. Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора гиперозида с известной концентрацией (25 %, 50 % и 75 %) к испытуемому раствору. Также определялась прецизионность.

Таблица 3 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид в густом экстракте побегов боярышника мягковатого

f	\bar{X}	S	S ²	P (%)	T (P, t)	$\Delta X, \%$	E, %
10	2,62	0,0600	0,0036	95	2,23	$\pm 0,07$	$\pm 2,64$

Таблица 4 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина в густом экстракте побегов боярышника кроваво-красного

f	\bar{X}	S	S ²	P (%)	T (P, t)	$\Delta X, \%$	E, %
10	4,15	0,0500	0,0025	95	2,23	$\pm 0,13$	$\pm 3,05$

Специфичность методики количественного анализа для густого экстракта побегов боярышника кроваво-красного определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов густого экстракта из побегов боярышника кроваво-красного и 2''-О-рамнозиду витексина. Линейность методики определяли для серии растворов 2''-О-рамнозиду витексина (с концентрациями в диапазоне от 0,00042 до 0,00374 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0,99997).

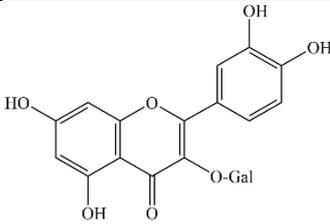
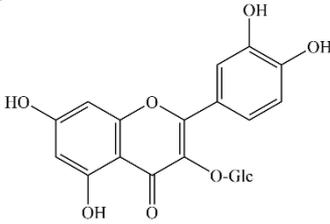
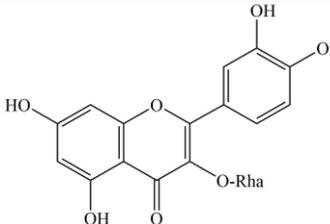
Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора 2''-О-рамнозиду витексина с известной концентрацией (25 %, 50 % и 75 %) к испытуемому раствору.

Разработаны методики качественного и количественного анализа для сырья и препаратов включены в проекты фармакопейных статей на «Боярышника мягковатого (полумягкого) побеги», «Боярышника кроваво-красного побеги», «Боярышника мягковатого побегов экстракт густой», «Боярышника кроваво-красного побегов экстракт густой».

4. Исследование листьев боярышника мягковатого методом колоночной хроматографии

Побеги боярышника мягковатого являются перспективным источником новых биологически активных соединений. При этом значительную часть сырья представлена листьями. С целью изучения химического состава листьев боярышника мягковатого было проведено исследование методом колоночной хроматографии. Для определения химической структуры выделенных веществ использовали методы ¹H-, ¹³C-ЯМР, УФ-спектрофотометрии, масс-спектрометрии, ТСХ, а также результаты реакции кислотного и ферментативного гидролиза. В ходе исследования химического состава листьев боярышника мягковатого методом адсорбционной жидкостной колоночной хроматографии впервые для листьев боярышника полумягкого выделены и идентифицированы индивидуальные соединения (табл. 5).

Таблица 5 - Характеристики веществ, выделенных из листьев боярышника мягковатого методом колоночной хроматографии

№ п/п	Название соединения	Химическая формула	Характеристики
1.	Гиперозид (3-О-β-D-галактопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавона)		Светло-желтое вещество состава C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ с т.пл. 229-232 °С (водный ацетон); масс-спектр (70 eV, 200 °С, m/z, %): 302 (M ⁺ агликона, 100 %), 153 (23), 137 (64), УФ-спектр (EtOH, λ _{max} , нм): 258, 266 пл, 363; + NaOAc 274, 381; + NaOAc + H ₃ BO ₃ 262, 378; +AlCl ₃ 275, 414; +AlCl ₃ + HCl 271, 403.
2.	Изокверцитрин (3-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавона)		Светло-желтое кристаллическое вещество состава C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ с т.пл. 221-224 °С (водный спирт). λ _{max} EtOH 256, 267 пл, 361 нм; + NaOAc 273, 380 нм; + NaOAc + H ₃ BO ₃ 262, 378 нм; +AlCl ₃ 274, 415 нм; +AlCl ₃ + HCl 270, 404 нм.
3.	Кверцитрин (3-О-α-L-рамнопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавона)		Светло-желтое кристаллическое вещество состава C ₁₅ H ₁₀ O ₇ с т.пл. 186-188 °С (водный спирт). λ _{max} EtOH 257, 268пл, 362 нм; + NaOAc 273, 381 нм; + NaOAc + H ₃ BO ₃ 262, 379 нм; +AlCl ₃ 274, 414 нм; +AlCl ₃ + HCl 270, 405 нм.

Таким образом из листьев боярышника мягковатого нами было впервые в РФ выделено три индивидуальных соединения, из которых преобладающим является гиперозид, а кверцитрин и изокверцитрин содержатся в меньших количествах.

5. Фармакологическое исследование по обоснованию целесообразности создания лекарственных растительных препаратов на основе сырья боярышника

В результате проведенных исследований диуретической активности было установлено, что густые экстракты побегов боярышника кроваво-красного и боярышника мягковатого оказывают влияние на выделительную функцию почек (табл. 6).

Способность побегов боярышника кроваво-красного влиять на увеличение общего диуреза связана с высоким содержанием в листьях 2''-О-рамнозид витексина. Креатининуретический эффект можно связать с присутствием флавоноида гиперозида, который характерен для цветков и листьев боярышника кроваво-красного и боярышника мягковатого. При этом отсутствие диуретического и креатининуретического эффектов для густого экстракта побегов боярышника однопестичного можно объяснить особенностью химического состава, связанного с невысоким содержанием указанных выше флавоноидов.

Таблица 6 – Влияние внутрижелудочного введения густых экстрактов на основе побегов боярышника на экскреторную функцию почек

Время, ч	Показатели	Контроль	Густой экстракт побегов боярышника кроваво-красного, 10 мг/кг	Густой экстракт побегов боярышника однопестичного, 10 мг/кг	Густой экстракт побегов боярышника полумягкого, 10 мг/кг
4 часа	Диурез, %	100	118	99	111
	Экскреция креатинина, %	100	167 **	108	142 *
24 Часа	Диурез, %	100	110	104	105
	Экскреция креатинина, %	100	135 *	106	104

Примечание – здесь (и далее):

* – $p < 0,05$ – уровень значимости отличий данных опытной группы и контрольной группы,

** – $p < 0,01$ – уровень значимости отличий данных опытной группы и контрольной группы

Также все три изучаемых густых экстракта были использованы для исследования антидепрессантной активности в тесте «Отчаяние» ("Forced swim test", Roger D. Porsolt) (табл. 7).

Таблица 7 – Влияние густых экстрактов побегов боярышника на двигательную активность животных

Показатель	Контроль (Вода)	Густой экстракт побегов боярышника кроваво-красного, 50 мг/кг	Густой экстракт побегов боярышника однопестичного, 50 мг/кг	Густой экстракт побегов боярышника мягковатого, 50 мг/кг	Амитриптилин, 5 мг/кг
Результат, %	100	129*	140*	164*	154*

Высокий результат антидепрессантной активности для густого экстракта побегов боярышника мягковатого можно объяснить присутствием большого количества гиперозида. Для 2''-О-рамнозид витексина также характерна некоторая антидепрессантная активность. Густой экстракт побегов боярышника однопестичного также проявляет антидепрессантную активность.

6. Изучение подходов к анализу твердых лекарственных форм на основе густых экстрактов побегов боярышника

Получение густых экстрактов побегов боярышника является необходимым условием для создания твердых лекарственных форм, в частности, таблеток. Поэтому нами проведено исследование по изучению возможности получения сыпучих масс для прессования таблеток с использованием густых экстрактов боярышника кроваво-красного, боярышника мягковатого и боярышника однопестичного. В качестве вспомогательных компонентов нами были выбраны пектин, получаемый из плодов боярышника, и лактоза.

На основе высушенного пектина, лактозы и густых экстрактов побегов боярышника кроваво-красного, боярышника однопестичного и боярышника мягковатого нами были получены сыпучие массы для прессования. Сыпучие массы для прессования получали путем смешивания измельченного пектина с лактозой и соответствующего густого экстракта в соотношении 3:2:1. Данный состав был подобран нами экспериментально.

Содержание суммы флавоноидов во всех сыпучих массах для прессования оценивалось по методике, аналогичной методике для густого экстракта. Исследование позволило сделать вывод о том, что количество флавоноидов в сыпучей массе пропорционально введенному количеству соответствующего густого экстракта. Таким образом, лактоза и пектин практически не влияют на высвобождение флавоноидов всех трех образцах, что дает возможность использовать данные сыпучие смеси для прессования таблеток.

7. Возможность получения экстракционных препаратов на основе плодов боярышника мягковатого

Как известно, сочные плоды боярышника мягковатого можно подвергать комплексной переработке. После отжима сока из плодов образуется пектин (осаждаемый спиртом из сока) и жом плодов, который может быть применен в качестве наполнителя для таблетированных лекарственных форм, совместно с лактозой. Жом после высушивания пригоден для получения экстракционных препаратов, таких как жидкий экстракт и настойка боярышника. Настойку плодов, как показали наши исследования эффективнее получать на основе 70% этилового спирта и в соотношении «сырье-экстрагент» – 1:5, а не 1:10, как было ранее. Оценку качества настойки мы проводили по содержанию суммы восстановленных флавоноидов (процианидинам) в пересчете на катехин при длине волны 282 нм, по методике, разработанной ранее.

Анализ содержания суммы флавоноидов в пересчете на катехин в полученных образцах настойки показывает, что препарат, полученный на основе плодов боярышника мягковатого ($0,38 \pm 0,05\%$), а также жома ($0,40 \pm 0,05\%$), значительно превышает промышленный образец препарата «Боярышника плодов настойка» по содержанию действующих веществ ($0,14 \pm 0,01\%$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного исследования были сделаны следующие выводы:

1. Проведен сравнительный анализ морфолого-гистологических особенностей побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*. Отличительными признаками побегов боярышника мягковатого являются обильное опушение подавляющей части побегов, наличие характерных железок по краю чашелистиков.

2. Сравнительное фитохимическое исследование цветущих побегов и их частей показало, проведенное методами хроматографии в тонком слое сорбента, спектрофотометрии и ВЭЖХ показало, что цветки *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* практически идентичны по химическому составу, при этом листья и побеги изучаемых видов имеют существенные химические различия, что не позволяет применить к побегам боярышника различных видов и лекарственным средствам, изготовленным из них одинаковые методики стандартизации.

3. Из листьев боярышника мягковатого впервые в РФ с помощью колоночной хроматографии выделено 3 индивидуальных соединения, относящихся к флавоноидам. С помощью хроматографических и спектральных методов, а также различных химических превращений эти соединения были идентифицированы как гиперозид, изокверцитрин и кверцитрин.

4. Разработан способ получения густых экстрактов на основе побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*, для которых научно обоснованы методики количественного определения суммы флавоноидов. В отношении густого экстракта побегов *C. sanguinea* предлагается использование дифференциальной спектрофотометрии ($\lambda=392$ нм; в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина), а в случае густого экстракта побегов *C. submollis* дифференциальной спектрофотометрии ($\lambda=412$ нм; в пересчете на гиперозид).

5. Проведенное исследование показало, что густые экстракты боярышника кроваво-красного и боярышника мягковатого обладают диуретическим и выраженным креатининуретическим действием. Также выявлено наличие антидепрессантной активности для густых экстрактов из побегов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis*.

6. Обоснована возможность использования густых экстрактов *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* для получения таблетированных лекарственных форм. Также предложен способ оптимизации получения препарата «Боярышника плодов настойка».

7. Разработаны проекты фармакопейных статей на «Боярышника мягковатого (полумягкого) побеги», «Боярышника кроваво-красного побеги», «Боярышника мягковатого побегов экстракт густой», «Боярышника кроваво-красного побегов экстракт густой».

Практические рекомендации. Рекомендации в прикладных аспектах использования данной работы предназначены для работников научно-исследовательских центров, центров по контролю качества ЛС и могут быть реализованы с целью проведения стандартизации сырья представителей *Crataegus* L. Практическое применение результатов диссертационного исследования может быть реализовано представителями фармацевтической промышленности, в том числе и с целью решения проблем по импортозамещению в отношении лекарственных средств, используемых в терапии заболеваний сердца. Немаловажно использование сформулированных результатов эксперимента высшими и средними специальными учебными заведениями, осуществляющими подготовку специалистов с фармацевтическим и медицинским образованием, при проведении лекционных и семинарских занятий дисциплин «Фармацевтическая химия» и «Фармакогнозия».

Перспективы и направления дальнейших исследований. Работа может быть использована в ходе проведения дальнейших исследований по углубленному изучению компонентного состава других представителей *Crataegus* L., стандартизации сырья, содержащего флавоноиды с целью включения его в нормативную документацию согласно требованиям Государственной Фармакопеи Российской Федерации. Практическая значимость исследования связана с дальнейшими перспективными разработками лекарственных препаратов с кардиотонической активностью.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Морозова, Т.В. Антидепрессантная активность экстрактов боярышника кроваво-красного / Т.В. Морозова, В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, А.В. Дубищев, А.В. Куркина, О.Е. Правдивцева, Н.А. Волкова // **Фармация**. – 2017. – Том 66. – № 4. – С. 37-39.
2. Куркин, В.А. Количественное определение суммы флавоноидов в плодах боярышника кроваво-красного / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, И.Х. Шайхутдинов, А.В. Куркина, Н.А. Волкова // **Химико-фармацевтический журнал**. – 2020. – Том 54. – № 1. – С. 14-18.
3. Волкова, Н.А. Оптимизация способа получения препарата «Боярышника плодов настойка» / Н.А. Волкова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, И.Х. Шайхутдинов, С.В. Первушкин, О.В. Бер // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2021. – № 5-6. – С. 87–91.
4. Волкова, Н.А. Исследования по разработке методики количественного анализа побегов боярышника кроваво-красного / Н.А. Волкова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина, Н.Р. Варина, О.В. Шарова // **Фармация**. – 2021. – № 70 (5). – С. 22-27.
5. Куркин, В.А. Изучение состава густых экстрактов побегов боярышника / В.А. Куркин, Н.А. Волкова, О.Е. Правдивцева, П.В. Трифонова, Н.Р. Варина, В.В. Стеняева, А.В. Дубищев, А.И. Агапов // **Традиционная медицина**. – 2022. – № 3 (69). – С. 42-46.
6. Волкова, Н.А. Сравнительное морфолого-анатомическое исследование побегов боярышника / Н.А. Волкова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, А.А. Андреев // **Традиционная медицина**. – 2022. – № 1 (67). – С. 37-41.
7. Куркин, В.А. Определение содержания флавоноидов в цветках, листьях и побегах боярышника / В.А. Куркин, Н.А. Волкова, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина, П.В. Трифонова, А.В. Дубищев, А.И. Агапов, С.Н. Егорова // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии**. – 2022. – Т. 25. – № 4. – С. 3-9.
8. Куркин, В.А. Сравнительное содержание суммы флавоноидов в сырье боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Л.Д. Климова, Т.В. Морозова, Н.А. Волкова, Г.Ф. Гамирова // **Вестник Пермской государственной фармацевтической академии**. – 2017. – №20. – С. 176-178.
9. Волкова, Н.А. Содержание суммы флавоноидов в препаратах плодов боярышника кроваво-красного / Н.А. Волкова, И.В. Устюжанина, Г.Ф. Гамирова, Г.Р. Яббарова // **Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы 75-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолГМУ с международным участием**. – Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2017. – С. 787-788.
10. Морозова, Т.В. Содержание суммы флавоноидов в сырье боярышника кроваво-красного / Т.В. Морозова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Э.А. Ахмедова, Н.А. Волкова // **Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов**. – Ижевск: Издательство ООО «Принт», 2017. – С. 49-50.
11. Волкова, Н.А. Изучение петтиолярных признаков боярышника однопестичного (*Crataegus monogyna* Jacq.) / Н.А. Волкова // XII научно-практическая конференция молодых учёных и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием: сборник материалов. – Душанбе: ТГМУ им. Абуали ибни Сино, 2017. – С. 291.
12. Волкова, Н.А. Сравнительное изучение петтиолярных признаков боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.) и боярышника однопестичного (*Crataegus monogyna* Jacq.) / Н.А. Волкова // II межвузовская научно-практическая конференции

«Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы» под. общ. ред. В.А. Куркина: сборник тезисов. – Самара: СамГМУ, 2016. – С. 159-171.

13. Куркин, В.А. Содержание суммы флавоноидов в различных препаратах *Crataegus sanguinea* Pall. / В.А. Куркин, Т.В. Морозова, Е.Н. Зайцева, Н.А. Волкова, О.Е. Правдивцева, А.В. Дубищев, О.В. Самокрутова // Актуальные вопросы разработки, изучения и обращения лекарственных средств: сборник материалов конференции, посвященный 35-летию фармацевтического факультета ЯГМУ. – Ярославль: ООО «Аверс Плюс», 2017. – С. 124-128.

14. Куркин, В.А. Вопросы создания кардиопротекторов на основе сырья боярышника кроваво-красного / В.А. Куркин, Т.В. Морозова, Е.Н. Зайцева, О.Е. Правдивцева, А.В. Дубищев, А.В. Куркина, Н.А. Волкова // Охрана труда и техника безопасности в учреждениях здравоохранения. – 2018. – № 1-2. – С. 17-23.

15. Куркин, В.А. Сравнительная диуретическая активность и антидепрессантное действие жидких экстрактов боярышника кроваво-красного / В.А. Куркин, Т.В. Морозова, Е.Н. Зайцева, О.Е. Правдивцева, А.В. Дубищев, Н.А. Додонова, Н.А. Волкова // III межвузовская научно-практическая конференция «Современные проблемы фармакогнозии»: сборник материалов под. общ. ред. В.А. Куркина. – Самара: СамГМУ, 2018. – С. 57-62.

16. Куркин, В.А. Проблемы создания кардиопротекторов на основе плодов боярышника / В.А. Куркин, И.Х. Шайхутдинов, Е.Н. Зайцева, О.Е. Правдивцева, А.В. Дубищев, А.А. Кретьова, Н.А. Волкова // Охрана труда и техника безопасности в учреждениях здравоохранения. – 2019. – № 1-2. – С. 28-32.

17. Шайхутдинов, И.Х. Изучение содержания флавоноидов в препаратах боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого / И.Х. Шайхутдинов, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, А.В. Дубищев, А.А. Кретьова, Н.А. Волкова // IV межвузовская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 100-летию Самарского государственного медицинского университета: сборник материалов под редакцией В.А. Куркина. – Самара: СамГМУ, 2019. – С. 51-54.

18. Куркин, В.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в цветущих побегах боярышника полумягкого / О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина, И.Х. Шайхутдинов, А.А. Кретьова, Н.А. Волкова // Медсестра. – 2020. – № 8. – С. 28-34.

19. Волкова, Н.А. Антидепрессантная активность гиперозида / Н.А. Волкова, А.А. Кретьова // «Актуальные вопросы современной медицины и фармации»: материалы 72-ой научно-практической конференции студентов и молодых ученых (г. Витебск, 12-13 мая 2020 г.) / под ред. А. Т. Щастного. – Витебск: ВГМУ, 2020. – С. 696-698

20. Волкова, Н.А. Исследование состава листьев боярышника кроваво-красного методом ВЭЖХ / Н.А. Волкова, И.Х. Шайхутдинов // Аспирантские чтения – 2020: материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молодые ученые: научные исследования и инновации» с международным участием, посвященной 90-летию з.д.н. РФ профессора А.А. Лебедева / под ред. проф. РАН А. В. Колсанова, академика РАН Г. П. Котельникова, доц. Е. Н. Зайцевой. – Самара: СамЛюксПринт, 2020. – С. 248-250.

21. Волкова, Н.А. Особенности получения сока из свежих плодов боярышника полумягкого / Н.А. Волкова, И.Х. Шайхутдинов, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения»: сборник трудов седьмой научной конференции. – М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2019. – С. 195-198.

22. Волкова, Н.А. Содержание суммы флавоноидов в листьях растений рода *Crataegus* / Н.А. Волкова, В.А. Куркин, И.Х. Шайхутдинов, О.Е. Правдивцева // Фармацевтическое образование СамГМУ. История, современность, перспективы: Сборник материалов. – Самара: СамГМУ, 2021. – С. 425-428.
23. Волкова, Н.А. Разработка методов анализа сока плодов боярышника мягковатого / Н.А. Волкова, И.Х. Шайхутдинов, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // «От растения до лекарственного препарата»: сборник Международной научной конференции. – М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2020. – С. 385-391.
24. Волкова, Н.А. Изучение содержания суммы флавоноидов в свежих и высушенных плодах боярышника вееровидного / Н.А. Волкова, В.А. Куркин // «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения»: сборник трудов IX международной научной конференции молодых ученых. – М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2020. – С. 341-344.
25. Волкова, Н.А. Содержание флавоноидов в плодах боярышника / Н.А. Волкова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Т.М. Жавкина // Сборник научных трудов Научно-практической онлайн-конференции с международным участием, посвященная 50-летию фармацевтического образования / под ред. В.А. Куркина. – Самара: СамГМУ, 2021. – С. 305-309.
26. Волкова, Н.А. Изучение содержания суммы флавоноидов в сырье и препаратах боярышника / Н.А. Волкова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Т.М. Жавкина // Сборник научных трудов Научно-практической онлайн-конференции с международным участием, посвященная 50-летию фармацевтического образования / под ред. В.А. Куркина. – Самара: СамГМУ, 2021. – С. 28-33.
27. Волкова, Н.А. Вопросы качественного анализа сырья растений рода Боярышник / Н.А. Волкова // Аспирантские чтения – 2021: материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молодые ученые – медицине» / под ред. проф. РАН А.В. Колсанова, академика РАН Г.П. Котельникова. – Самара: СамЛюксПринт, 2021. – С. 260-262.
28. Шайхутдинов, И.Х. Изучение условий хранения сока плодов боярышника полумягкого / И.Х. Шайхутдинов, Н.А. Волкова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, А.А. Андреев // Сборник научных трудов Научно-практической онлайн-конференции с международным участием, посвященная 50-летию фармацевтического образования / под ред. В.А. Куркина. – Самара: СамГМУ, 2021. – С. 23-27.
29. Волкова, Н.А. Изучение содержания суммы флавоноидов в свежих плодах боярышника / Н.А. Волкова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Н.Н. Мезенцева, Т.М. Жавкина // Сборник научных трудов Научно-практической онлайн-конференции с международным участием, посвященная 50-летию фармацевтического образования / под ред. В.А. Куркина. – Самара: СамГМУ, 2021. – С. 17-22.
30. Волкова, Н.А. Научное обоснование целесообразности использования препаратов на основе побегов боярышника в медицинской практике / Н.А. Волкова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, И.Х. Шайхутдинов // «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы: Сборник материалов. – Томск: СибГМУ, 2021. – С. 126-127.
31. Куркин, В.А. Изучение содержания флавоноидов в побегах некоторых видов рода боярышник / В.А. Куркин, Н.А. Волкова, О.Е. Правдивцева // Фармацевтическое дело и технология лекарств. – 2022. – №1. – С. 26-31.

32. Волкова, Н.А. Флавоноиды побегов боярышника мягковатого / Н.А. волкова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты»: Сборник материалов докладов XI международного симпозиума (Москва, 11–15 апреля 2022 г). – М.: ИФР РАН, 2022. – С. 181.

33. Волкова, Н.А. Изучение качественного состава флавоноидов в сырье и препаратах цветущих побегов боярышника / Н.А. Волкова, А.А. Андреев, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // «Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств»: Сборник материалов 8-й Международной научно-методической конференции / под редакцией А.С. Беленовой, А.А. Гудковой. – Воронеж, 2022. – С. 108-111.

34. Климова, А.И. Исследование антидепрессантной активности густых экстрактов побегов боярышника / А.И. Климова, Н.А. Волкова // «Природные соединения и здоровье человека»: Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Иркутск: ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, 2022. – С. 58-62.

35. Волкова, Н.А. Изучение подходов к получению новых лекарственных препаратов на основе густых экстрактов побегов боярышника / Н.А. Волкова // X международная научно-практическая конференция молодых ученых «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения»: Сборник научных трудов. – М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2022. – С. 295-299.

Патенты

1. Пат. 2772208 Российская Федерация, МПК G01N 21/00, A61K 36/734, B01D 11/02. Способ получения лекарственного средства «Боярышника плодов настойка» / В.А. Куркин, Н.А. Волкова, И.Х. Шайхутдинов, О.Е. Правдивцева; заявитель и патентообладатель СамГМУ. – № 2021100661; заявл. 13.01.2021; опубл. 18.05.2022, Бюл. № 14.

Монография

1. Куркин, В.А. Виды рода Боярышник (*Crataegus* L.): стандартизация и создание лекарственных препаратов: Монография / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, И.Х. Шайхутдинов, А.В. Куркина, Е.Н. Зайцева, Н.А. Волкова. – Самара: ООО «Офорт», 2020. – 118 с.: ил.