

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

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

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
Правдивцева Ольга Евгеньевна,
доктор фармацевтических наук,
доцент

Самара – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ВИДЫ РОДА БОЯРЫШНИК (<i>CRATAEGUS</i> L.) КАК ИСТОЧНИКИ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	14
1.1. Обзор видов боярышника	20
1.2. Химический состав официальных и потенциальных видов сырья.....	28
1.3. Фармакологическая активность и лекарственные препараты, изготовленные из сырья представителей рода Боярышник	35
1.4. Качественный анализ.....	40
1.5. Количественное определение	43
1.6. Проблема изготовления новых лекарственных препаратов	46
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1.....	48
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	49
2.1. Краткий обзор объектов эксперимента, задействованных в ходе исследования	49
2.2. Обзор методов эксперимента, задействованных в ходе исследования .	52
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПОБЕГОВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>CRATAEGUS</i> L.	65
3.1. Внешние признаки высушенных побегов некоторых представителей рода <i>Crataegus</i> L.....	65
3.2. Микроскопические признаки некоторых представителей рода <i>Crataegus</i> L.	68
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3.....	75
ГЛАВА 4. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	76
4.1. Выделение индивидуальных соединений	76
4.2. Идентификация выделенных веществ	77
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 4.....	84
ГЛАВА. 5 ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗА СЫРЬЯ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>CRATAEGUS</i> L.....	85
5.1. Качественный анализ сырья и препаратов боярышника.....	85

5.2. Количественный анализ сырья и препаратов боярышника	101
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 5.....	109
ГЛАВА 6. ОБОСНОВАНИЕ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ СОЗДАНИЯ И ИЗУЧЕНИЕ ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПОБЕГОВ БОЯРЫШНИКА	110
6.1. Получение густых экстрактов побегов боярышника	111
6.2. Исследование выделительной функции почек под действием густых экстрактов побегов боярышника	111
6.3. Исследование антидепрессантных свойств густых экстрактов на основе побегов боярышника.....	113
6.4. Возможность получения экстракционных препаратов	115
6.5. Изучение подходов к анализу твердых лекарственных форм из густых экстрактов побегов боярышника	116
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 6.....	122
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	123
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	126
ПРИЛОЖЕНИЯ	144

ВВЕДЕНИЕ

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.

ГЛАВА 1. ВИДЫ РОДА БОЯРЫШНИК (*CRATAEGUS* L.) КАК ИСТОЧНИКИ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Различные виды растений рода Боярышник (*Crataegus* L.) известны с глубокой древности. Сырье этих растений применялось для медицинских, технических, пищевых и декоративных целей еще во времена Древней Руси.

Наименование рода растения на латинском языке – *Crataegus* L. Возникло как производное от греческого слова «κράταιος», которое переводится на русский язык как «сильный, крепкий», вторая часть родового наименования содержит греческое «οξύεια» – в переводе «острый», что говорит о шипах боярышника [11, 48, 49, 51, 130]. Название связано как со свойством древесины, отличающейся твердостью и долговечностью, так и из-за наличия острых колючек, защищающих это растение. Английское название растения «hawthorn» (комбинация двух слов: «haw» – с древнего английского переводится как «живая изгородь», «thorn» – «шип») имеет англосаксонское происхождение от «haguthorn», что буквально переводится как «забор с шипами». Боярышник имеет много разговорных наименований. Например, майский цветок, майский шип и колючее яблоко, так как обычно он распускает белые цветки вначале мая [11, 48, 51, 130, 156]. У данного представителя семейства *Rosaceae* достаточно вариативное прошлое и настоящее.

В Древней Греции супружеские пары венчались цветками боярышника, а участники свадебной процессии несли факелы из боярышника. Дерево также ассоциировалось с Кардеей, римской богиней брака и деторождения. Римляне клали листья боярышника в детские колыбели [156].

Во время весенних праздников в Англии срезали большие ветви боярышника и вкапывали их в землю перед домами [156]. Они назывались майскими кустами и были украшены полевыми цветами. Хотя снаружи было разрешено украшать дом цветами боярышника, занесение их в дом, несомненно, принесло бы болезнь. Срубить дерево боярышника было плохой приметой. Поскольку дерево священно, нужно спросить разрешения, прежде чем брать цветы или веточки, и обязательно оставить подношение, когда срубаешь целое дерево.

Согласно легендам, если во дворе растет боярышник, то он предотвратит проникновение духов в дом [156].

Несмотря на вышеупомянутые запреты английскими колонистами молодые листья, бутоны и цветки уже тогда были признаны как пищевые. Их употребляли в зеленые салаты и салаты из тертых корнеплодов. Наиболее часто использовали генеративные почки [69, 78, 156].

Плоды во многих странах остаются ценным пищевым продуктом. В Мексике плоды боярышника добавляют в пунш и варенье, а из смеси мякоти плодов, сахара и порошка чили получают конфеты. Вследствие селекции в возделывании некоторых представителей рода азиатских стран плодоводство боярышника имеет не меньшее значение по сравнению с плодами яблонь. В Китае плоды используют для изготовления хлопьев из боярышника, покрытых сахарным сиропом. Кроме того, в Азии из плодов изготавливают муку, которую потом добавляют во фруктово-ягодный хлеб. Также плоды добавляют в мармелад, джемы, желе, соки и варенье. В Южной Корее из боярышника изготавливают алкогольные напитки. Для чайного напитка используют поджаренные косточки этого растения [69, 78, 156].

Древесина боярышника обычно кремово-коричневого цвета, мелкозернистая и очень твердая. Ее со Средневековья использовали в токарном производстве и изготовлении гравировальных досок, в том числе для изделий из шпона и шкафов, а также ящиков, рукояток для инструментов, деталей лодок, колодок инструментов для строительства. Из него также получают хорошие дрова и древесный уголь, и известно, что он горит при высоких температурах. Кроме того, кора боярышника содержит дубильные вещества, что позволяет применять ее в качестве сырья для получения красящего красно-коричневого пигмента. Также использовали шипы боярышника для изготовления прочных рыболовных крючков и мелких операций на коже [69, 78, 156].

Сейчас кроме медицинского применения, боярышник, несмотря на специфический аромат цветков, часто используется некоторыми парфюмерными брендами для создания ароматических композиций [69, 78, 156].

Из-за своей исключительной красоты кустарники боярышника зачастую высаживали как уличное или декоративное растение. В Англии кусты боярышника находили применение для обозначения границ культивируемых полей и усадебных участков. Возделывание боярышника так же популярно, как яблони, часто его выбирают в сочетании с колючей живой изгородью. Боярышник даже сейчас выращивают как растение для живой изгороди, он является популярным выбором в садах дикой природы, парках, также для внутриквартального озеленения [69, 78].

Предполагается, что юго-западные районы Китая, а также Мексика были первыми естественными ареалами произрастания боярышника, после произошла трансберингийская миграция азиатских и американских видов *Crataegus*: из Китая в Европу, из Азии в Северную Америку. Также есть мнения о том, что растение произошло из Северной Америки путем трансатлантических миграций: восточная часть Северной Америки и Европа, вероятно, самые недавние общие районы происхождения *Crataegus*. Таким образом, представители рода, эволюционировавшие юго-западным путем дали начало европейским видам, в то время как растения, эволюционировавшие северо-восточным путем, делят генофонд с североамериканскими видами. Самые ранние при этом окаменелости, приписываемые этому роду, относятся к мезозойской эре мелового периода [135, 145].

В 1753 г. Карлом Линнеем было предложено отнести к роду *Crataegus* девять видов растений, три из которых в наше время относят к другим таксонам. Остальные встречаются и сейчас: *C. oxyacantha*, *C. azarolus*, *C. coccinea*, *C. crus-galli*, *C. tomentosa*, *C. viridis*. После Линнея количество видов, включенных в род, стало значительно больше. Новые виды обнаруживались и описывались на территории Северной Америки в последних десятилетиях XIX века и тридцати лет XX века. Было обнаружено более 1000 новых видов. В странах Европы, Азии и Африки насчитывалось более новых 200 представителей и подвидов и более 100 внутривидовых таксонов, описанных до конца XX века ботаниками: Жаном-Мари Луи Пуаре, Карлом Г.Э. Кохом, Мишелем Гандоже и другими [135]. Описанием боярышника флоры СССР занималась А.И. Пояркова и В.И. Ткаченко [4, 7, 33, 87,

109, 135]. Антонина Пояркова стала одной из первых исследователей евразийских видов *Crataegus*. В XIX систематиками предполагались попытки разделить род *Crataegus* на более мелкие таксоны, что в итоге не внесло изменений в систематику семейства. Большой вклад в систематику боярышников внес дендролог советского периода Коропачинский И.Ю. [4, 7, 33, 87].

Имеется большее видообразие представителей семейства *Rosaceae*. Исследования генетических свойств отдельных представителей *Crataegus* показывают, что существует больше видов, чем известно до сих пор. Большое влияние на это оказывает гибридизация *Crataegus*, приведены биогеографические распределения самих гибридов и их прородителей. На данный момент бывает трудно проследить филогенетическое развитие рода, в особенности филогению таксонов, у которых гибридизация играет определенную роль в их эволюции. Согласно мнению некоторых ученых, гибридизация, в частности, интрогрессия (процесс естественной гибридизации) и последующая полиплоидия могут играть существенную роль в эволюции *Crataegus*. Кроме того, апомиксис – клональное размножение семенами, также может быть важным фактором. Факультативный апомиксис у триплоидных видов встречается у некоторых европейских и американских представителей. Некоторые особенности рода, включая морфологию листьев, количество и окраску плодов, являются полиморфными. При этом полиморфизм и гибридизация являются основной причиной обилия схожих видов *Crataegus* [135, 157].

На данный момент полиморфный род насчитывает более 200 видов и множество гибридных форм. Распространяются представители *Crataegus* в умеренных климатических условиях, субтропических северного полушария. Встречается в Европе, Азии, северной Африке, Америке. Предпочитает степь, лесостепь, лес. Растет как одиночно, так и группами. Имеются представители, предпочитающие влажный климат, а также засухоустойчивые виды.

В настоящее время существует очень много декоративных форм боярышника. Махровые цветки этих растений имеют все оттенки розового и красного цвета. Встречаются формы с белыми и цветами, сочетающимися в себе

белый и розовый цвет. Многие виды отличаются красивым и долгим цветением, являясь необычным украшением садов и парков. Данные садовые формы растений были получены путем скрещивания нескольких природных видов боярышника. Так широкую популярность получили гибридные формы *C. laevigata*. Сорта «Розеа флоре плено» обладает махровыми розовыми цветками, «Рубра плено» отличается махровыми пурпурными цветками с белыми лепестками посередине, «Альба плено» отличается нежно-розовыми цветками, «Paul's Scarlet» имеет ярко-красные цветки, «Кандида плено» с белоснежными цветками. Кроме того, существуют гибридные формы *C. monogyna*. Сорт под названием «Стрикта» обладает пирамидальной формой кроны и направленными вверх ветвями. Гибридная форма представителя вида «Компакта» напротив имеет округлое очертание, соцветия при этом – с махровыми белыми цветками. Одревесневшие ветви «Флексуоза» отличаются скручиванием. Сорт «Вариегата» имеет крапчатые листовые пластины с зеленым и белым цветами. Наконец, характерной особенностью гибридной формы «Розеа флоре плено» являются ярко-розовые густые соцветия. У *C. monogyna*, кроме того, известны гибриды с плакучей, пирамидальной формой кроны. Красочными также являются сорта «Левальери», характеризующийся обильным цветением, «Морденский», представленный кустами со светло-розовыми цветками; причем в фазу цветения цвет лепестков постепенно меняется с белоснежного на более розоватый оттенок. Ажурными ярко-розовыми цветками обладает сорт «Кримзон клауд», соцветия данного сорта также особо густые. Гибридные формы боярышника петушья шпора бывают с яркими крупными плодами, ажурной формой кроны, а также с карликовым ростом. Следует отметить, что большинство декоративных сортов боярышника являются зарубежными [33, 55].

Особенно актуально обустройство живой непроницаемой изгороди из боярышника: Б. зеленомясый, Б. туркестанский, Б. Королькова. Особую ценность для ландшафтного дизайна также представляет Б. Дугласа с нежными белыми лепестками и розового цвета чашелистиками. Для этого растения высаживаются в заранее подготовленные траншеи по нужному периметру. Формообразованию

легче всего подвергаются молодые побеги: по весне удаляется главный побег, далее по окончании цветения производится обрезка. Распространена вертикальная боковая стрижка, в результате которой формируется прямоугольная форма. Недостатком данной формы является неравномерное распределение солнечных лучей, из-за чего происходит неоднородное изреживание побегов, в связи с чем требуется частая стрижка. Наиболее правильна в этом случае форма трапеции или закругленная кверху. Распространены также солитерные посадки боярышника: Б. перистонадрезанный, Б. зеленомясый, гибридные декоративные формы, расстояние между кустарниками при этом зависит от высаживаемого вида [33].

Кроме того, в последнее время для декоративных целей все чаще стали использовать боярышники, имеющие заметные плоды с необычной окраской. Окраска может быть ярко-оранжевой, янтарной, золотисто-желтой или черно-фиолетовой. Также описываются представители семейства, а именно Б. сливолистный, Б. крупноколючковый, Б. петушья шпора, с плодами, сохраняющими свою декоративность в течение почти всей зимы. Плоды этих видов долго остаются на ветвях и служат хорошим украшением сада [33, 55].

Селекция коснулась также и тех боярышников, сорта которых используют в пищу в качестве ягод. Правда это касается преимущественно гибридов североамериканских боярышников. Сорта «Бусинг», «Тимирязевец» и «Подарок Куминова» выведены отечественными селекционерами. Данные сорта были выведены для получения особо крупных плодов. Кроме того, при выведении сортов учитывалось содержание в плодах аскорбиновой кислоты. Как известно, данный витамин разрушается при высушивании плодов и даже хранении. Следовательно, плоды должны быть переработаны в свежем виде. Целью переработки могут быть получение как пищевых, так и лекарственных средств. Разработкой ЛС, изготовленных из плодов боярышника, успешно занимались в СамГМУ [33, 55].

1.1. Обзор видов боярышника

На данный момент в нашей стране используются плоды, высушенные на воздухе, и цветки боярышника для получения лекарственных препаратов, влияющих на работу сердечно-сосудистой системы. Плоды боярышника могут употребляться в пищу как в свежем виде, так и после кулинарной обработки. Настой листьев боярышника, в том числе ферментированный, может использоваться в качестве напитка. Различные виды боярышника успешно используются для озеленения города, а также высаживаются в лесопосадках для защиты посевов от ветра. Популярна высадка аллей из боярышника, непроходимых изгородей [12]. Стебли боярышника могут быть использованы для прививки сортовых яблонь и груш, которые объединяют вместе с целью получить комплекс свойств нескольких растений: размножение видов растений, которые имеют наибольшую ценность для сельского хозяйства, увеличение сопротивляемости заболеваниям и неблагоприятным условиям окружающей среды, благодаря чему выводят новые виды других растений. Например, рябина гранатная была получена путем скрещивания боярышника с рябиной обыкновенной. В данном случае используют привой с ветвями боярышника [48, 49].

В настоящее время в Российской Федерации в медицинской практике находят применение цветки и плоды боярышника, а для получения сырья используется 12 видов этого растения [25]. При этом, несмотря на кажущееся обилие видов для заготовки сырья, для большинства видов рода *Crataegus* L. ареал произрастания находится за пределами РФ, а в культуре можно встретить лишь единичные экземпляры [4, 7, 12]. Область распространения данного лекарственного растения представлена в таблицах 1, 2.

Таблица 1 – Ареалы произрастания на территории РФ видов рода *Crataegus* L., введенных в официальную медицинскую практику Российской Федерации

Русское название	Латинское название	Естественный ареал произрастания на территории РФ
Боярышник кроваво-красный	<i>Crataegus sanguinea</i> Pall.	Центральные районы Европейской части РФ, Заволжье, Средний и Южный Урал, Западная Сибирь, Забайкалье
Боярышник Королькова (Боярышник алтайский)	<i>Crataegus korolkovii</i> L. Henry. (<i>Crataegus altaica</i> (Lond.) Lange.)	Южное Предуралье, Алтай
Боярышник желтый (Боярышник алтайский)	<i>Crataegus chlorocarpa</i> Lenne et C. Koch. (<i>Crataegus altaica</i> (Lond.) Lange.)	Южное Предуралье, Алтай
Боярышник даурский	<i>Crataegus dahurica</i> Koehne ex Schneid.	Юго-восток Сибири, Дальний Восток, Приамурье, Приморье.
Боярышник однопестичный	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	Юго-западные районы Европейской части РФ, Калининградская область, Крым, Кавказ
Боярышник пятипестичный	<i>Crataegus pentagyna</i> Waldst. Et Kit.	Крым, Кавказ
Боярышник отогнуточашелистиковый	<i>Crataegus curvisepala</i> Lindm. (<i>Crataegus kirtostyla</i> sensu Pojark.)	Южные районы Европейской части РФ, Крым, Кавказ

Таблица 2 – Ареал произрастания за пределами РФ видов рода *Crataegus* L., введенных в официальную медицинскую практику Российской Федерации

Русское название	Латинское название	Естественный ареал произрастания за пределами РФ
Боярышник германский	<i>Crataegus alemanniensis</i> Cin.	Прибалтика
Боярышник восточно-балтийский	<i>Crataegus orientobaltica</i> Cin.	Прибалтика
Боярышник курземский	<i>Crataegus</i> × <i>curonica</i> Cin.	Прибалтика
Боярышник даугавский	<i>Crataegus</i> × <i>dunensis</i> Cin.	Прибалтика

Боярышник сглаженный (Боярышник колючий)	<i>Crataegus laevigata</i> (Poir) DC. (<i>Crataegus oxyacantha</i> sensu Pojark.)	Западная Европа
---	---	-----------------

Наиболее широкий ареал обитания имеет боярышник кроваво-красный, который встречается и на Европейской территории РФ, и в Сибири. Боярышник однопестичный встречается на юге Европейской части РФ, в Крыму и на Кавказе. Незначительные по площади природные ареалы имеют некоторые другие виды боярышника, причем многие из них широко не культивируются [7, 19, 77, 109, 129].

Практически промышленная заготовка происходит от боярышника кроваво-красного и боярышника однопестичного. Поэтому, мы считаем, что рациональной представляется заготовка сырья от некоторых, широко культивируемых на территории Российской Федерации, зарубежных видов боярышника. К их числу относится боярышник мягковатый или полумягкий (*Crataegus submollis* Sarg.), родиной которого является Северная Америка (территория США и Канады) [55, 109].

Жизненная форма растения варьируется от небольших многоствольных кустарников до деревьев высотой около 10 м. У большинства видов встречаются как кустарниковые, так и древовидные особи. Зрелый ствол обычно покрыт корой, на которой присутствуют мелкие, серо-коричневые, желтые или оранжевые, слегка угловатые чешуйки. В зависимости от видовой принадлежности высота кустарника они колеблются от 10 до 15 метров. Тем не менее, некоторые боярышники выращивают как деревья бонсай, кроме того, есть экземпляры деревьев, которые достигают высоты 30 метров в идеальных условиях выращивания [2, 12, 29, 87, 88, 135].

Цвет и характер ветвления побегов подлежат изменению в течение первых 1-3 лет жизни. Ветви начинают расползаться довольно низко по стволу и расти вверх. Цвет веточек предыдущего года варьируется от пепельно-серого и темно-коричневого до оранжевого или желтого и обычно плохо коррелирует с видом

Молодые ветви быстро начинают образовывать острые колючки. На более старых ветвях и на стволе колючки находятся по всей поверхности [12, 29, 33, 87, 88, 135].

Растения обладают обоеполыми цветками, в которых присутствуют и пестики [29, 33]. Цветки боярышника развиваются с весны до конца лета и имеют очень своеобразный запах, связанный, возможно, с присутствием диэтиламина. Обычно цветки белого цвета, хотя некоторые гибриды характеризуются розовыми, а также темно-красными цветками. Запах цветков боярышника привлекает особых насекомых-опылителей [29, 33]. Соцветие обычно представляет собой щиток, реже зонтик, или цветки одиночные. Количество самих цветков в соцветии значительно варьируется. Цветоножка бывает короткой или длинной. У цветков присутствуют прицветники эллиптической или серповидной формы, зубчатые по краю. Цветки пятичленные, околоцветник двойной. Пыльца трехлопастная от эллиптической до почти сферической формы [12, 29, 33, 87, 88, 135].

Форма листьев рознится от вида. Листовая пластина бывает с глубокими и мелкими лопастями, или беззубчатым краем. Число лопастей составляет 1-3 или 4-8. Край листовой пластины цельный, глубоколопастной или зубчатый. Размер листовых пластинок варьируется до примерно 15 см. Черешки могут быть как длинными или короткими, так и почти отсутствовать. Прилистники листьев часто в виде серпа, по краям прилистники цельные, зубчатые [12, 29, 33, 87, 88, 135].

Плодоносят ранней осенью. Плод – яблочко, имеет шаровидную или грушевидную или узкоэллиптическую форму. Цвет экзокарпия в зависимости от вида может быть от желто-оранжевого до темно-красного. Количество семян в плодах варьируется от вида [12, 29]. Размер семени от 6 мм в длину и 4 мм в диаметре до 35 мм в длину и 27 мм в диаметре, а цвет семени может быть желтый, оранжевый, красный, черновато-фиолетовый, черный [12, 29, 33, 87, 88, 135].

Боярышник кроваво-красный – *Crataegus sanguinea* Pall.

C. sanguinea является относительно невысоким деревом. Также может расти в виде большого кустарника. В длину достигает от одного до шести метров. Цвет

коры – бурый, серо-бурый. Этот вид характерен кустовидным ростом [2, 29, 33, 103]. Побеги крепкие, имеют блеск. Ветви имеют красный или пурпурно-коричневый цвета (рис. 1). На молодых побегах находятся малочисленные волоски. Ветви характеризуются прямыми колючками, однако они могут отсутствовать [2, 12, 29, 87, 88, 103].

Этот вид представителей семейства имеет листовую пластину, на которых находятся трихомы с обеих сторон. С вентральной стороны имеет темно-зеленый оттенок, на дорсальной – более светлой окраски. Форма пластины яйцевидная иногда обратояйцевидная. С апикальной части черешок представлен цельнокрайним и клиновидным основанием, кончик листовой пластины острый. Листовая пластина трехлопастная, семилопастная. Молодые листочки на незрелых побегах короткие – неглубоко лопастные, более зрелые на длинных иногда глубоколопастные, по латеральной области сплошные. Прилистники листовой пластины имеют серповидную форму иногда кососерцевидные [33, 43, 49, 57].

Цветки собраны в густые щитковидное соцветия, с нитевидными прицветниками, белыми лепестками и продолговато-треугольными чашелистиками. Цветки имеют 20 тычинок с пурпурными пыльниками, столбиков насчитывается от 3-х до 5-ти [33, 43].

Плоды боярышника кроваво-красного 8-10 мм в длину. Экзокарпий имеет окраску кроваво-красного цвета. Мезокарпий плодов состоит из волокон мучнистой мякоти желтого цвета. Косточек у плода от 3 до 5, которые со дорсальной стороны извилистые [5, 6].



Рисунок 1 – Боярышник кроваво-красный

Боярышник однопестичный – *Crataegus monogyna* Jacq.

C. monogyna описывается как невысокое деревце, иногда жизненная форма представлена кустарником. Побеги имеют багряный тон. Цвет ветвей пепельно-бурый. На ветвях имеются односантиметровые колючки (рис. 2). Листовая пластина трехраздельная или пятираздельная, на дорсальной и вентральной сторонах присутствует плотный слой воска. Листья достигают в длину 4,5 см. Соцветия – щитки, количество цветков в соцветии 10-18, отдельный цветок диаметром до 1,5 см. Плоды красновато-коричневые, имеют сплющенное основание и слегка заостренный округлый кончик, напоминающий яйцо, встречаются также широко-эллипсоидальные. Важной особенностью плода является присутствие одной косточки [2, 7, 29, 33, 87, 88, 103].



Рисунок 2 – Боярышник однопестичный

Боярышник мягковатый – *Crataegus submollis* Sarg.

Жизненная форма *C. submollis* представляет собой ветвистое кустообразное иногда многоствольное дерево от 6 до 8 метров в высоту [33, 55]. Ветви образуют округлую или овальную крону (рис. 3). Ветви серого и светло-коричневого цвета. Молодые побеги имеют темно-зеленый цвет и густо опушены. Ветви несут ровные в некоторых случаях несколько искривленные колючки [33, 68, 88, 103].

Листовая пластина интенсивного темно-зеленого отлива, имеет форму яйца. У апикальной части черешка листовая пластина имеет отсеченное основание, расширенно клиновидное. Дистальный конец листа заострен, латеральные концы имеют зубчатые края, у основания двоякозубчатые. Черешки до 5 см в длину. Прилистник имеет форму серпа [33, 103].

Собранные в соцветия генеративные органы составляют щитки, по 10 или 15 штук опушенных войлочных цветков в каждом. Цветок пятичленный. Цветоложе сложено из белых лепестков, тычинок в органе около 10 штук, тычинки находятся в оранжево-желтом пыльнике. Цветки имеют специфический запах [47, 55].

Плодоносит ближе к осени. Множество плодов по классификации относят к яблочку. Экзокарпий пурпурный, карминово-красный или красновато-оранжевый. Длина околоплодника составляет 20 мм. Снаружи экзокарпий покрыт матово-бледными точечками. Мезокарпий представлен водянистыми волокнами слабо оранжевого цвета. Семя заключено в плотный эндокарпий, семян плодов 5, которые с дорзальной стороны исчерчены выемками [5, 6, 33].

В природе этот вид боярышника имеет широкий ареал распространения. В основном он охватывает северо-восточную часть Северной Америки (территории США и Канады). В Российской Федерации широко культивируется в умеренной полосе, в качестве декоративного и пищевого растения. Этот вид отличается неприхотливостью, он устойчив в отношении морозных зим и в отношении летних засух [33]. Кроме того, как показывают наши многолетние наблюдения, данный вид устойчив против грибковых заболеваний на листьях, мучнистой росы и ржавчины,

часто поражающих дикорастущие виды боярышника, а спелые плоды на растении никогда массово не повреждаются вредителями [84].



Рисунок 3 – Боярышник мягковатый

Систематики относят все три указанных выше вид рода Боярышник к различным секциям. Боярышник кроваво-красный относится к секции *Sanguineae*, к секции *Oxyacantha* принадлежит боярышник однопестичный, а виды боярышника североамериканского происхождения, такие как боярышник мягковатый (полумягкий) относятся к секции *Molles* [33].

Морфолого-анатомический анализ разных видов сырья боярышника проводился в разное время разными авторами. Хорошо изучены признаки цветков и плодов для фармакопейных видов боярышника. Листья боярышника кроваво-красного также были изучены ранее в ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (БГМУ) [113]. Сравнительная петиолярная анатомия отдельных видов боярышника была также сделана ранее в СамГМУ [55]. Кроме того, московскими авторами проведен тщательный анализ отличий побегов боярышника от побегов других растений, цветущих в одно время с боярышником, то есть тех, которые могут быть потенциальной примесью к лекарственному сырью [89-91]. Сравнительный анализ был проведен с акцентом на пыльцу растений, как наиболее отличительную деталь сырья. Однако пыльца, на наш взгляд, является достаточно сложным объектом морфолого-анатомического анализа и требует определенных навыков.

Следует отметить, что морфолого-анатомические признаки побегов боярышника мягковатого до сих пор остаются изученными не в полной мере. Не изучались они и в сравнительном аспекте с побегами других видов боярышника.

1.2. Химический состав официальных и потенциальных видов сырья

На территории Российской Федерации разрешены к медицинской практике цветки, заготавливаемые в цветущую фазу вегетации, наряду с тем регламентировано также использование плодов боярышника для изготовления ЛРП. Свежие плоды боярышника, кроме того, рационально быть заготовлены с целью производства гомеопатических препаратов, а именно матричной настойки «Кратегус». Правда, ее получают только из плодов боярышника однопестичного и боярышника сглаженного (колючего), и ко всему прочему на данное время не зарегистрирован в РФ. Плоды, так же, как и цветки *C. laevigata*, *C. monogyna*, *C. oxycantha* также включены в фармакопеи нижеперечисленных стран: Соединенное королевство, Республика Беларусь, Республика Казахстан, Соединенные Штаты Америки. Наряду с тем, в фармакопее США описаны как ЛРС цветки с листьями боярышника, а это указывает на возможность рационального введения другого вида сырья боярышника – побегов, собранных в фазу цветения [27, 28, 134] (рис. 4).



Рисунок 4 – Высушенные побеги боярышника мягковатого, собранные на стадии цветения

Согласно фармакопейным рекомендациям, такое сырье, как цветки с листьями – побеги, следует собирать в вегетационный период цветения, при наиболее интенсивном сокодвижении и накоплении искомым биологических структур. При этом у древесных форм растений цельные сырье представляет собой верхушки побегов, включая листовые пластины, черешки и их части, молодые стебли, у которых не сформировалась древесина первичной коры, цветки, иногда бутоны [85]. В этом случае в большей степени облегчается заготовка, в сравнении с собиранием представленного в фармакопее сырья по ряду причин: при «комплексном» сборе сырья необходима меньшая затрата сил, данное сырье более выгодно собирать с экономической точки зрения, листья потенциально могут иметь ценные биологически активные вещества при значительном соотношении фитомассы их к цветкам (6:4), зеленые побеги молоденькие и без усилий отщипывается от ветвей. В то же время целесообразно также по отдельности заготавливать листья с черешками, имеющими большую фитомассу по сравнению с цветками, как было сказано ранее. В некоторых литературных источниках встречается информация о том, что листья боярышника используются в качестве сырья в народной и зарубежной медицине [69, 76, 78]. Имеются данные об антиаритмическом действии листьев боярышника кроваво-красного [105]. Учеными СамГМУ выполнены исследовательские работы, которые также подразумевают, что целесообразно на данный момент комплексное использование сырья боярышника, а именно листьев в виде заготовки с целью потенциального изготовления ЛП, отличительной чертой которых является диуретическая активность [53, 54]. В свою очередь результаты некоторых исследований позволяют прийти к заключению о том, что компонентный состав листьев *S. sanguinea* и *S. submollis* могут иметь принципиальные различия (табл. 3, табл. 4). Их легко заметить по разным максимумам кривой поглощения при проведении УФ-спектрофотометрии [52]. В некоторых источниках описывается применение настоя из корней боярышника Королькова как средства, повышающего физическую и психическую работоспособность [69, 76].

В каждом из образцов сырья представителя *Crataegus L.* ключевой группой БАС считаются растительные полифенолы – флавоноиды [30, 115]. Необходимо подчеркнуть тот факт, что компонентный состав сырья *C. submollis* как и прежде исследован неудовлетворительно. Несмотря на то, что над изучением состава трудились исследователи из БГМУ и СамГМУ. Так, компонентный состав побегов проанализирован с применением метода сверхвысокоэффективной хроматографии жидкости с идентификацией химических структур информации, имеющейся в библиотечной базе данных масс-спектров. При этом в результате в составе были обнаружены помимо типичного для *C. submollis* гиперозида (кверцетин-3-О-галактозида) некоторые флавоноиды, не характерные для *Rosaceae*, но специфичные для *Asteraceae*. Следовательно, необходимо подтвердить эти выводы изучением сырья с применением метода колоночной хроматографии. Кроме того, данные авторы изучали только побеги, что не следовало делать при изучении данного вида сырья впервые. Потому что побеги древесных жизненных форм состоят из собственно листьев, и даже бутонов, цветков, молодых стеблей, у которых не сформировалась древесина первичной коры, которые следовало изучать по отдельности. Также эти авторы изучают состав летучих компонентов побегов боярышника, которые не почти не обнаруживаются в получаемых извлечениях. Ранее также учеными СамГМУ подробно изучались плоды *C. submollis*.

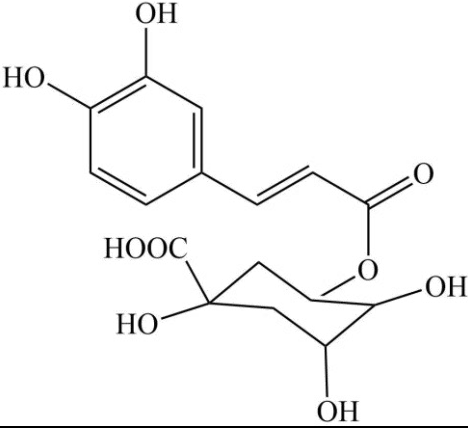
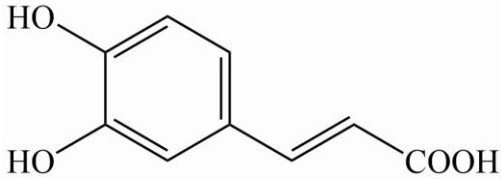
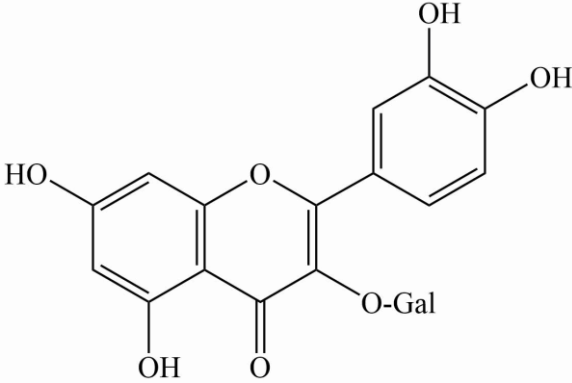
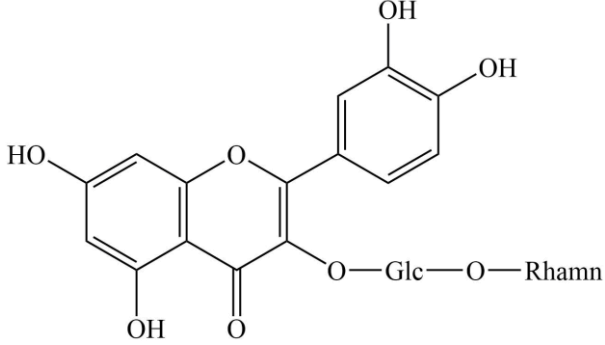
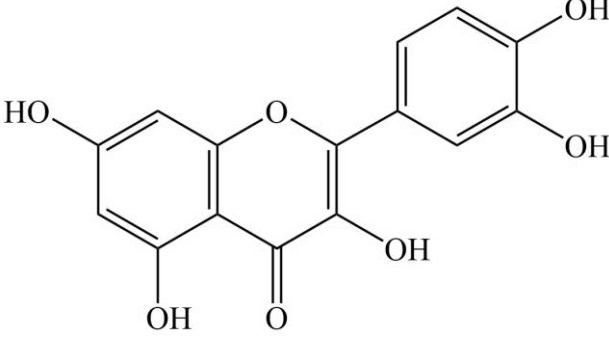
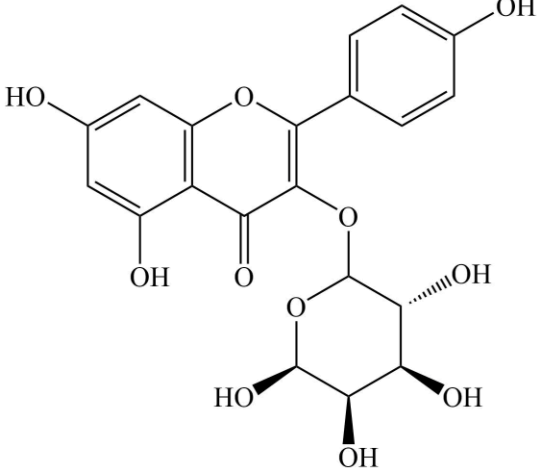
Таблица 3 – Содержание биологически активных соединений в сырье некоторых видов рода *Crataegus L.*

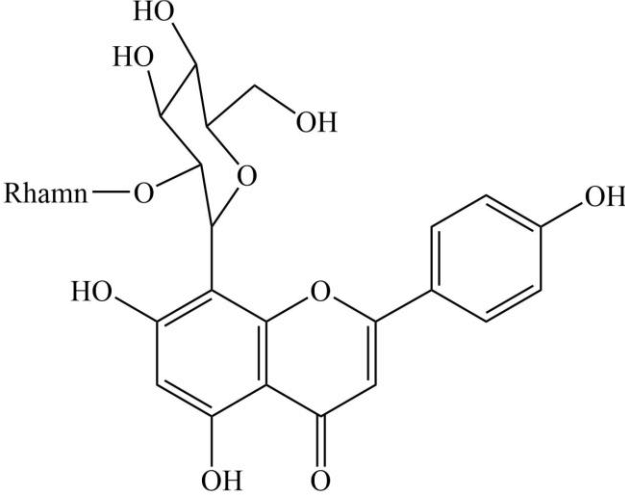
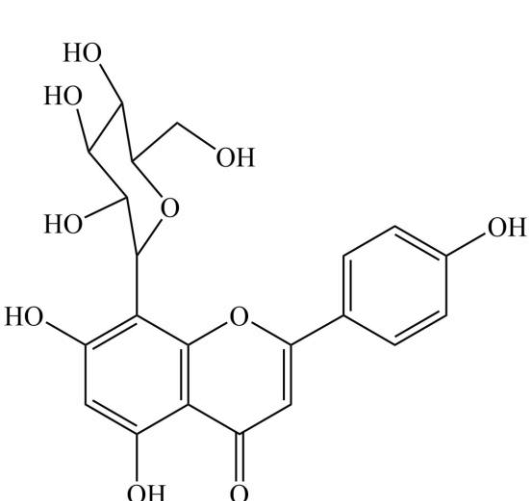
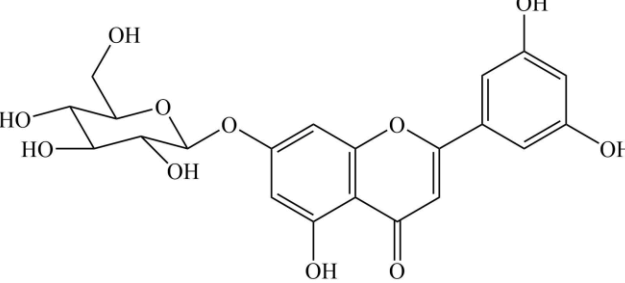
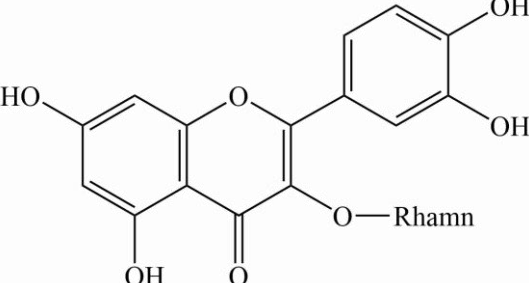
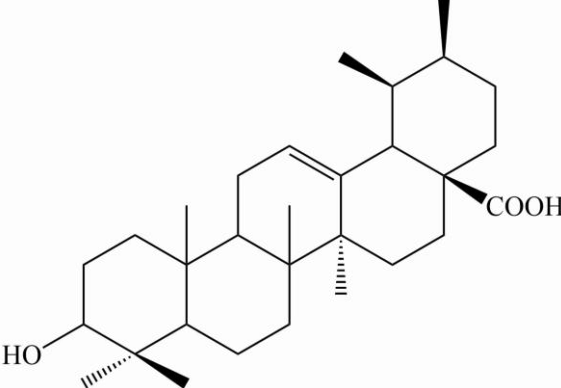
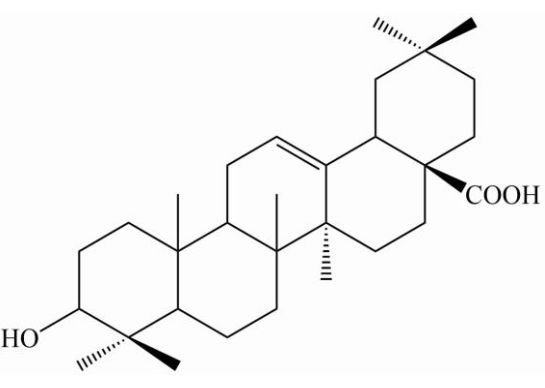
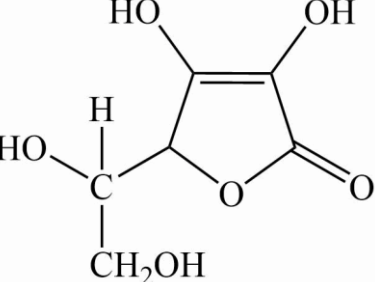
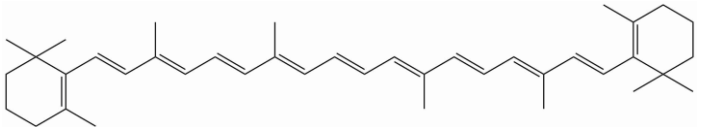
№ п/п	Вид боярышника	Цветки	Листья
1.	Боярышник кроваво-красный	<p><i>Эфирное масло.</i></p> <p><i>Дубильные вещества:</i> конденсированные.</p> <p><i>Флавоноиды:</i> Гиперозид (кверцетин-3-О-галактозид), кверцетин,</p>	<p><i>Флавоноиды:</i> Гиперозид (кверцетин-3-О-галактозид), кверцетин, рутин (кверцетин-3-О-рутинозид), процианидины, сангвинеозид, 2''-О-рамнозид витексина, витексин, кверцитрин,</p>

		<p>рутин (кверцетин-3-О-рутинозид), 8-метоксикемпферол, витексин, биокверцетин, пиннатифидин, ацетилвитексин, дезацетилкратенацин, 3-О-β-D-галактозил-α-L-рамнозид кверцетина.</p> <p><i>Азотистые соединения:</i> холин, ацетилхолин.</p> <p><i>Органические кислоты:</i> янтарная кислота [14, 20, 21, 31, 32, 37, 49, 55, 65, 74, 87, 88].</p>	<p>трифолин.</p> <p><i>Фенилпропаноиды:</i> 4-О-β-D-глюкоапиранозид п-кумаровой кислоты, кофейная кислота, хлорогеновая кислота (3-кофеилхинная кислота).</p> <p><i>Сапонины:</i> олеаноловая кислота.</p> <p><i>Стерины:</i> 3-О-β-D-глюкоапиранозид эргостерина [14, 20, 21, 31, 32, 37, 49, 55, 65, 74, 87, 88].</p>
2	Боярышник однопестичный	<p><i>Витамины:</i> аскорбиновая кислота, каротиноиды.</p> <p><i>Сапонины:</i> α-амирин, β-амирин, урсоловая кислота, олеаноловая кислота,</p> <p><i>Стерины:</i> ситостерин.</p> <p><i>Фенилпропаноиды:</i> кофейная кислота.</p> <p><i>Флавоноиды:</i> витексин, рамнозид витексина, сапонаретин, ориенин, гомориентин, гиперозид, рутин, кверцетин, рамнозид моноацетилвитексина, кемпферол, 3-О-рамногалактозид кверцетина, кратезид, глогозид, 3-О-β-D-глюкопиранозид 8-метоксикемпферола, моноацетилгомоориентин, рамнозид</p>	<p><i>Сапонины:</i> урсоловая кислота, олеаноловая кислота, циклоартенол.</p> <p><i>Фенилпропаноиды:</i> хлорогеновая кислота (3-кофеилхинная кислота),</p> <p><i>Флавоноиды:</i> эпикатехин, катехин [14, 20, 21, 31, 32, 37, 49, 55, 65, 74, 87, 88].</p>

		<p>ориентина, 2''-О-рамнозид, 2''-(4''''-О-ацетил)-α-L-рамнозид и 4'-рамнозид</p> <p>витексина, 2''-О-рамнозид</p> <p>изовитексина, 4'-рамнозид и 2''-О-рамнозид</p> <p>ацетилвитексина, неошафтозид</p> <p>изошафтозид, шафтозид, виценин-1, виценин-2, виценин-3 [14, 20, 21, 31, 32, 37, 49, 55, 65, 74, 87, 88].</p>	
3.	Боярышник мягковатый	<p><i>Флавоноиды:</i> гиперозид, изокверцитрин, авикулярин. <i>Эфирные масла.</i></p> <p><i>Жирные кислоты:</i> миристиновая кислота, пальмитиновая кислота, каприновая кислота, пентадекановая кислота.</p> <p><i>Терпеноиды:</i> фитол, гераниол, сквален, линалоол, геранилацетон.</p> <p><i>Ароматические соединения:</i> бензофенон, бензальдегид. [14, 20, 21, 30, 31, 32, 37, 49, 55, 65, 74, 87, 88, 115].</p>	<p><i>Флавоноиды:</i> гиперозид, авикулярин. <i>Эфирные масла.</i></p> <p><i>Жирные кислоты:</i> миристиновая кислота, пальмитиновая кислота, каприновая кислота, пентадекановая кислота.</p> <p><i>Терпеноиды:</i> фитол, гераниол, сквален, линалоол, геранилацетон.</p> <p><i>Ароматические соединения:</i> бензофенон, бензальдегид. [14, 20, 21, 31, 32, 37, 49, 55, 65, 74, 87, 88].</p>

Таблица 4 – Биологически активные соединения сырья боярышника

1. Фенилпропаноиды	
	
Хлорогеновая кислота	Кофейная кислота
2. Флавоноиды	
	
Гиперозид	Рутин
	
Кверцетин	Трифолин

	
2''-O-рамнозид витексина	Витексин
	
Сангвинеозид	Кверцитрин
3. Сапонины	
	
Урсоловая кислота	Олеаноловая кислота
4. Витамины	
	
Аскорбиновая кислота	β-каротин

1.3. Фармакологическая активность и лекарственные препараты, изготовленные из сырья представителей рода Боярышник

Патологические изменения организма со стороны сердечно-сосудистой системы влекут за собой последствия в виде инвалидизации и смертности [3, 8]. Рост этих заболеваний является следствием многих причин, среди которых фигурируют вредные привычки, стресс, а также воздействие неблагоприятной экологической обстановки. Также рост заболеваемости сосудистыми болезнями часто парадоксально провоцируется улучшением качества жизни. Терапия этих заболеваний в данный момент обширно расширяется: с перехода от строго терапевтической науки, кардиология шагает в сторону распространения кардиохирургии и эндоваскулярной хирургии. Немаловажную роль играют мероприятия превентивного характера. Необходимо особо выделить тот факт, что препараты, изготовленные из ЛРС, имеют все шансы на включение в терапию сердечных болезней на первоначальных этапах. Таким образом, целесообразно в фитотерапии заболеваний сердца применять препараты, изготовленные из боярышника. В дополнение к этому, они также могут быть использованы для длительного и курсового лечения [34-36, 42, 44, 69, 76, 78, 92, 99, 113, 130, 133, 137, 140-144, 147, 148].

Препаратам боярышника свойственно комплексное действие. Для них характерна кардиотоническая активность [3, 15, 39, 41, 42, 50, 82, 93-96, 98, 106, 149-152, 154, 155]. При этом отмечается положительный инотропный эффект и отрицательный хронотропный эффект препаратов боярышника [3, 65, 82]. Авторами отмечается также антигипертензивный, коронарорасширяющий эффекты боярышника [3, 61, 65, 69, 70, 86, 102]. Существуют сведения позитивного воздействия биологически активных соединений боярышника на электроэнергетический взаимообмен в атипичных кардиомиоцитах [3, 15, 39, 98, 139, 140]. Механизмом биологически активного действия веществ боярышника считается процесс торможения фосфодиэстеразы в тканях, вместе с тем, по некоторым литературным данным, усиливается стойкость типичных

кардиомиоцитов к кислородному голоданию [3, 15, 95, 131, 144]. Некоторыми исследователями вместе с тем подтверждается активность в отношении снижения в крови липопротеинов низкой и очень низкой плотности. Характерной особенностью БАС боярышника в свою очередь считают нормализацию ритма сердечных сокращений [3, 15, 39, 119, 138, 138, 153]. Замечается, что возможно клиническое применение потенциальных ЛС боярышника не только лишь с целью излечения, а также с целью превентивных мероприятий различных болезней сердца и сосудистой системы [3]. Холесекретическая активность, а также ингибирование окислительных реакций приписываются плодам боярышника [3, 18, 131]. Существуют сведения об активности некоторых ЛП боярышника в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, а также некоторых простейших, кроме того, описано применение боярышника при некоторых дерматологических заболеваниях, также есть данные о положительном влиянии на исход заболеваний мочеполовой системы [9, 56, 152]. Упоминается противолучевое действие на физико-химическом уровне, способность нарушать процесс деления злокачественных клеток, инициируя апоптоз, а также анальгезирующее действие [60].

В РФ сейчас применяются цветки и плоды боярышника для получения средств, оказывающих влияние на сердце и сосуды человека [23-28]. Как правило, наиболее широко распространенными являются отвар плодов и препарат «Боярышника плодов настойка».

Препарат «Боярышника плодов настойка», выпускаемый фармацевтической промышленностью, получается из плодов боярышника в соотношении «сырье-экстрагент» 1:10. Разовый прием данного лекарственного средства составляет 30 капель, инструкция по медицинскому применению позволяет употреблять препарат 3-4 раза в день с учетом того, что плоды боярышника не содержат токсических веществ, однако все же поднимается вопрос об эффективности такого курсового лечения [55]. Согласно фармакопейным требованиям, введена в норму числовая характеристика суммы флавоноидов, что составляет не менее 0,003%. Необходимо отметить, что настойка изготавливается при использовании 70%

водно-спиртового раствора, назначается она при этом как приложение к стандартной терапии. В связи с этим возможными является возникновение нежелательного побочного эффекта в виде лекарственного взаимодействия, а также нужно учесть влияние этанола. Для интенсификации наполнения ЛП действующими химическими структурами инициировались испытания по модернизации ЛП «Боярышника плодов настойка» [34, 47]. Также ЛП с водно-спиртовой фракцией в составе несут вредоносное воздействие на систему сердца и сосудов отдельным контингентам больных. Их запрещено потреблять автовладельцам, лицам до 18 лет, в определенных иных вариантах.

Плоды подлежат заготовке для последующего изготовления жидкого экстракта (соотношение сырья с водно-спиртовой фракцией 1:1). Жидкий экстракт в последствии используют для производства Кардиовалена [26, 49, 112]. Этот препарат в настоящее время фактически отсутствует среди средств аптечного ассортимента. Доклинические исследования, поведенные в СамГМУ на белых беспородных крысах, позволили выявить антидепрессантную активность жидкого и густого экстрактов плодов боярышника кроваво-красного [53, 72, 73, 124, 125].

Настойки плодов боярышника, согласно государственному реестру лекарственных средств (ГРЛС) производятся АО «ПФК Обновление», ООО «Женел ЛД», «Брынцалов-А», ЗАО «Эколаб», АО «Кемеровская фармацевтическая фабрика», АО «Флора Кавказа», ОАО «Дальхимфарм», ОАО «Ивановская фармацевтическая фабрика», ОАО «Владивостокская фармацевтическая фабрика», ОАО «Тверская фармацевтическая фабрика», ООО «БЭГРИФ», ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика», АО «Кировская фармацевтическая фабрика», ОАО «Марбиофарм», ООО «РОСБИО» [22]. Также боярышника плоды выпускают: ООО Фирма «Фито-бот», АО «Иван-чай», АО «Красногорсксредства», ООО Фирма «Здоровье». Боярышника плодов порошок в ГРЛС предоставляют: ООО Фирма «Здоровье». Боярышника цветки выпускает Микроген НПО ФГУП, Белореченск [22].

В России также зарегистрирован препарат «Кедровит», выпускаемый в лекарственной форме эликсира. Кедровит представляет собой общетонизирующее

средство растительного происхождения, в состав которого входят водно-спиртовые извлечения из аронии черноплодной плоды, почки березы, боярышника плоды и цветки, орех кедровой сосны [22].

Кроме Кедровита в реестр ЛС включен седативный ЛП «Валоседатин», капли для приема внутрь, содержащий левоментол, экстракт валерианы, натрия бромид и настойку плодов боярышника [22, 86].

Раствор «Стабикардин», раннее название – «Кардиотрон», который позиционируется как кардиотоническое лекарственное средство сочетает в себе настойки травы ландыша и плодов боярышника. Но наряду с этими фармсубстанциями в состав Стабикардина включен экстракт листьев крапивы двудомной. Крапива содержит филлохинон, обеспечивающий активацию синтеза в печени факторов свертывания крови II, VII, IX, X, которые в свою очередь обеспечивают адекватную работу внутреннего и внешнего пути коагуляции. При этом увеличивается свертываемость крови, что способствует ее загустению, повышая риски образования тромбов и увеличение кровяного давления. Что крайне нежелательно при терапии сердечно-сосудистых болезней [22, 86].

Ранее из плодов боярышника в ГРЛС был включен препарат «Кратезид», который сейчас не зарегистрирован в России [49]. Изготавливают также множество биологически активных добавок (БАД).

Показано, что некоторые извлечения из сырья боярышника проявляют антимикробную активность [23]. Причем наиболее высокие показатели замечены для жидких экстрактов плодов боярышника [56]. Однако использование их в качестве самостоятельных антимикробных средств нецелесообразно.

Ранее в СамГМУ был разработан способ переработки свежих плодов боярышника мягковатого с получением сока. Полученный сок, как показали исследования, обладает диуретическим эффектом и антидепрессантной активностью и может с успехом применяться в медицинской практике в качестве лекарственного препарата [81, 124]. При этом высушенный жом сырья, может использоваться для получения экстракционных лекарственных средств. Также одним из получаемых в ходе переработки свежих плодов продуктов является

пектин, осаждаемый из сока свежих плодов боярышника. Поэтому пектин может быть основной для получения твердых лекформ. Также некоторые авторы описывают фармакологическую активность самого пектина, а именно на систему иммунного ответа [66].

Отмечается тенденция к использованию плодов боярышника, тогда как, несмотря на зарегистрированность в фармакопее цветки не представлены как самостоятельные препараты или же настойки в ГРЛС не представлены и входят как составные компоненты только в БАДы [22]. При этом доклинические исследования говорят о присутствии у цветков антидепрессантного действия [53, 72, 73, 124, 125]. Следует отметить, что флавоноид гиперозид, содержащийся в сырье боярышника, также содержится и в траве зверобоя. Трава зверобоя за рубежом является основой для получения антидепрессантных лекарственных средств [9]. На наш взгляд, на основе сырья боярышника также возможно создание отечественных антидепрессантов.

Как уже отмечалось, перспективное ЛРС боярышника – листья и побеги (цветки и листья), которые заготавливаются в цветущую фазу вегетации. Иногда побеги заменяют термином «Цветки с листьями». Однако, по сути, заготовка и применение данного сырья идентично. В РФ популярным является чешский препарат «Ново-Пассит» – таблетки и раствор, который обладает седативными свойствами и содержит в себе жидкий экстракт листьев и цветков боярышника однопестичного и колючего. В СамГМУ проводились исследования, которые показали, что побеги *C. sanguinea* и *C. submollis* антидепрессантным действием [53, 72, 73, 124, 125]. Антидепрессантный эффект также обнаружен у жидкого экстракта цветков и листьев боярышника мягковатого. Данные вытяжки для исследования получали с использованием спирта в концентрации 70% без выпаривания спирта с сохранением жидкой консистенции. Ученые, проводившие испытания в БГМУ, отмечают антиаритмическую активность листьев боярышника сибирского [105]. Также для этого вида ЛРС характерна диуретическая активность [53, 54]. Этой же группой ученых была обнаружена способность боярышника препятствовать тромбообразованию и ингибирование окислительных процессов [45].

Биологически активные добавки, выпускаемые известными брендами распространены на рынке. Так, группой изобретателей выпущен эликсир, содержащий только органические экстракты, в состав которого входят цветки и листья боярышника однопестичного, листья тернеры раскидистой, цветущие побеги липы, цветки дамасской и прованской розы, побеги вереска, цветки жимолости японской, корень имбиря. По данным заявителей, описываемая биологически активная добавка обладает свойством стимулятора работы мозга и сердца [69].

Популярность набирает использование органических компонентов для добавления их не только в биологически активные добавки, но и косметические средства. Производители российской косметики зачастую прибегают к созданию органических сывороток, в частности с боярышником даурским. Помимо боярышника в составе присутствуют экстракты черники таежной, бурых охотских водорослей, голубики вулканической. В данном экстракт боярышника проявляет эффективность в отношении регенерации кожи и тканей, восстановление защитных функций кожи. Кроме того, увеличение микроциркуляции в капиллярах, а соответственно улучшение обмена веществ. Таким образом, можно выделить антиоксидантные свойства боярышника [45].

Итак, сейчас в РФ практически нет ЛП боярышника, за исключением настойки, а имеющиеся в аптечных сетях не являются широко популярными.

1.4. Качественный анализ

1.4.1. Цветки

Качественный анализ цветков боярышника регламентируется Государственной фармакопеей Российской Федерации XIV издания и предполагает использование тонкослойной хроматографии с применением растворов образцов сравнения кверцетин-3-О-рутинозида, кверцетин-3-О-галактозида, кверцетина. Хроматографическая камера наполняется элюентом: этилацатат-бутиловый спирт-

2-метановая кислота-вода, соотношение частей подвижной фазы 30:10:5:5. Обработка пластины выполняется водно-спиртвыми смесями дифенилбариллоксиэтиленамина 1% и полиэтиленгликоля 5%, детектируют просмотром пластинки в УФ-фильтре [25]. Данная подвижная фаза (ПФ) содержит бутиловый спирт, пагубно влияющий на слизистую человека, роговицу и конъюнктиву глаз выделяющимися парами. В Государственной фармакопее Республики Беларусь качественный анализ цветков также осуществляется с помощью ТСХ, а в систему растворителей входит метанол [27]. При этом в качестве стандартного образца (СО) выступает гиперозид.

Наш опыт показывает возможность использования такого элюента, как хлороформ-этиловый спирт-вода в соотношении 26:16:3 [52, 58]. В дальнейшем необходимо просматривание пластинки в УФ-лампе при 254 нм и проявление щелочным раствором диазобензолсульфоуксусной кислоты. Этот метод подходит для цветков всех видов боярышника, в том числе боярышника мягковатого [57]. В качестве стандартного образца целесообразно применять кверцетин-3-О-галактозид. На наш взгляд, в качестве возможного метода качественного анализа цветков может выступать ВЭЖХ [89, 113, 132].

1.4.2. Листья

Листья как самостоятельный вид сырья почти не применяются. Однако в научной литературе имеются данные о применении ТСХ (качественно), ВЭЖХ (качественно) и спектрофотометрии (количественно) для этого вида сырья боярышника. В этом случае вопрос упирается в отсутствие стандартов для данного вида сырья. Это связано в том, что вопрос о химическом составе листьев боярышника является не до конца изученным.

1.4.3. Листья с цветками (побеги)

Качественный анализ побегов описываются в фармакопеях Соединенного королевства, Республики Беларусь, Республики Казахстан, Соединенных Штатов Америки, Федеративной Республики Германии [27, 136]. Подлинность по данным ГФ Соединенных Штатов оценивают при помощи ТСХ с использованием образцов сравнения кверцетин-3-О-рутинозида, кверцетин-3-О-галактозида, 3-кофеилхинной кислоты. Подвижной фазой выступает при этом система растворителей, в которой присутствуют этиловый эфир этановой кислоты, метановая кислота, вода. Дальнейшее детектирование пластинок осуществляют с применением 2-дифенилбариллоксиэтиленамина спиртового 1% и полиэтиленгликоля 4000 метанольного 5 %, в дальнейшем пластинку обучают ультрафиолетовым светом. Также предусмотрен анализ методом ВЭЖХ. В Белорусской фармакопее и ГФ Соединенного Королевства предусмотрена оценка веществ методом анализ хроматографией в тонком слое сорбента. При этом на пластины наносят метанольные растворы 3-кофеилхинной кислоты и кверцетин-3-О-галактозида.

Как показали наши исследования [55], методом при определении качественного компонентного состава может являться хроматография в тонком слое сорбента водно-спиртового извлечения из листьев на пластинках Sorbfil PTSX-AF-A-UV 10X15 (TU 26-11-17-89) в подвижной фазе метилтрихлорида-этилгидрата-воды в соотношении 26 : 16 : 3. В качестве раствора свидетеля целесообразно использовать раствор СО кверцетин-3-О-галактозида. Детекцию разделенных веществ следует проводить, облучая пластинку ультрафиолетовым светом $\lambda=254$ нм и опрыскивая раствором диазотированной сульфаниловой кислоты. На хроматограмме в исследуемом образце обнаруживаются пятно желтого цвета с R_f около 0,5 на уровне пятна, соответствующему кверцетин-3-О-галактозиду [55].

1.4.4. Плоды боярышника

Существующие в настоящее время подходы для качественного анализа плодов боярышника предусматривают, в основном ТСХ с использованием раствора СО гиперозида. Однако, на наш взгляд, оптимальным методом качественного анализа будет проведение прямой спектрофотометрии извлечения из плодов боярышника разных видов и разведений из его экстракционных препаратов с обнаружением максимума поглощения при 282 ± 2 нм [30, 57, 59, 60, 122, 123].

1.5. Количественное определение

1.5.1. Цветки

Определение количества веществ нормируется фармакопейной статьей на этот вид ЛРС, строго устанавливая содержание в сырье гиперозида со значением нижнего предела не менее 0,5 % [25]. Анализ проводится методом хроматоспектрофотометрии. Поэтому в СамГМУ был ранее предложен метод дифференциальной спектрофотометрии с установлением суммарного значения количества флавоноидов в пересчете на гиперозид [55, 58]. Следует отметить, что если говорить об антидепрессантных свойствах сырья, то принципиальным действительно будет количество гиперозида в сырье. Однако хроматоспектрофотометрию, сопряженную с потерей части анализируемого вещества, можно заменить, на наш взгляд, ВЭЖХ.

1.5.2. Листья

Несмотря на то обстоятельство, что данный вид сырья не находит широкого применения в нашей стране, возможные подходы к анализу описаны в научной литературе. С целью установление количества некоторых флавоноидных компонентов в таком сырье как листьях используют спектроскопия в ультрафиолетовой области спектра с установлением суммарного значения

флаваноилов с учетом пересчета на кверцетин-3-О-рутозид [27]. Помимо этого способа, предложено спектроскопия в ультрафиолетовой области с установлением суммарного содержания проанокцианидинов в пересчете на хлорированную соль цианидна [27].

Дело осложняется тем обстоятельством, что, как показали наши предварительные исследования, листья боярышника разных видов имеют достаточно вариабельный состав. Следует отметить, что при этом в цветках разных видов боярышника доминирует кверцетин-3-О-галактозид, а в плодах процианидины.

Ранее в СамГМУ был исследован компонентный состав структур листьев *C. sanguinea*. Было доказано, что доминирующий флавоноид листьев данного вида *Crataegus* представляет собой 2''-О-рамнозид витексина, имеющий максимум поглощения в УФ-свете при 392 нм (в комплексе с хлористым алюминием). При этом у листьев *C. submollis* наиболее разумно суммарно определять флавоноиды в пересчете на гипперозид. Также доступным способом определения количества флавоноидов расценивается жидкостная хроматография высокой эффективности [55].

1.5.3. Листья с цветками (побеги)

Количественный анализ листьев с цветками боярышника в Государственной фармакопее США предусматривает определение суммы флавоноидов методом ВЭЖХ [136]. При этом длительная по времени пробоподготовка осуществляется с применением токсичного для организма метанола. Расчет количества ведущих соединений побегов в ГФ Соединенного Королевства и Беларуси подразумевает спектроскопию в ультрафиолетовом свете с суммарным расчетом флавоноидов в пересчете на кверцетин-3-О-галактозид [27, 136]. При этом странным, на наш взгляд, является то обстоятельство, что удельный показатель поглощения для гипперозида составляет 405. На наш взгляд, этот показатель завышен и должен составлять около 330. Сырье побеги представляет собой смесь из цветков, листьев

и молодых стеблей, у которых не сформировалась древесина первичной коры. Если цветки разных видов боярышника имеют похожий химический состав, то листья боярышника отличаются по данному признаку. При этом листья составляют значительную часть побегов, тогда как количество цветков варьирует.

Ранее нами были разработаны походы к количественному анализу листьев, а также побегов *C. sanguineae* и *C. submollis*. Было установлено, что расчет количества ведущих соединений исследуемого ЛРС разумно проводить методом дифференциальной спектроскопии в ультрафиолетовом свете с суммарным установлением флавоноидов. При этом так как листья отличны друг от друга по компонентой структуре, у боярышника кроваво-красного при $\lambda=392$ нм, в то время как боярышника мягковатого – 412 нм [55].

При этом учеными из БГМУ предлагается определение количества главных БАС побегов *C. submollis* по схеме: ступенчатое экстрагирование 80% спиртом, спектроскопия в ультрафиолете и дальнейший расчет по рутину, который не доминирует в этом сырье [30, 115]. Московскими учеными предлагается количественный расчет БАС побегов проводить одинаковым для нескольких видов сырья, что не в полной мере объективно, так химический состав листьев разных видов боярышника, на наш взгляд, слишком вариативен [89-91].

1.5.4. Плоды

Способ расчета количества целевых компонентов в плодах описан в ГФ РФ XIV издания. Он представляет собой последовательность сложного предварительного элюирования вещества постановлением колонки, в дальнейшем рекомендуют фиксировать величину непрозрачности слоя раствора СО гиперозида и элюата, полученного после колонки и вычислять сумму флавоноидных соединений [25]. Данная схема определения требует большого труда, занимает много времени и повлекает за собой ошибки определения. В связи с чем ранее исследователями СамГМУ был описан способ расчета количества главных БАС с помощью дифференциальной спектроскопии в ультрафиолетовой области с

дальнейшим суммарным определением флавоноидов в пересчете на катехин $\lambda=282$ нм [55, 57, 59]. Такого рода аспект возможно благополучно осуществить в определении количества компонентов как самих плодов, так и изготовленных из них ЛП.

1.6. Проблема изготовления новых лекарственных препаратов

Итак, плоды и препараты, произведенные в России – наиболее популярны. При этом настойка в качестве ЛП требует, на наш взгляд, модернизирования технологии, с целью получения продукта с большим значением активных соединений. Препараты, содержащие компоненты цветков и листьев, являются зарубежными средствами. С другой стороны, такой препарат, как «Ново-Пассит» пользуется популярностью в нашей стране. Следовательно, существует необходимость в создании подобных ему импортозамещающих средств с целью терапии болезней сердца, сочетающих также положительное влияние на выделительную систему, а также нервную систему человека. Как известно, болезни сердца и сосудов часто сопровождаются отеками, а стрессовые ситуации часто являются их основной причиной. Изобретение, как мы считаем, средств, изготовленных из побегов боярышника, могло бы решить проблему расширения ассортимента лекарственных препаратов с одной стороны и появлению эффективных кардиотонических средств растительного происхождения – с другой.

Как известно, жидкие лекарственные формы, такие как растворы, капли не очень удобны в применении для пациентов в отличие от твердых, такими как являются таблетки. Они не содержат в себе этиловый спирт, что является еще одним положительным моментом для целей лечения сердца и сосудов. Таким образом, зная, что наиболее эффективным экстрагентом для сырья боярышника является 70% этанол, можно предположить получение жидкого экстракта и введением его в сыпучую массу для прессования при проведении влажного гранулирования. Либо смешивать с субстанциями для твердых лекарственных форм экстракт, полученный после удаления экстрагента.

Следует отметить, что возможным, на наш взгляд, компонентом твердых лекарственных форм может являться пектин, полученный после осаждения из сока боярышника полумягкого [104, 126]. Пектин, как известно, является не только вспомогательным веществом при получении таблеток, но и хорошим природным адсорбентом и может оказывать антитоксическое действие, способствуя скорейшему выздоровлению и успешной профилактике заболеваний [66]. Отмечается также способность пектина влиять на иммунитет человека [66].

Учитывая нестабильную экологическую ситуацию во всем мире, изменения климата, осложнения от перенесенных заболеваний, постоянные стрессовые ситуации, в которые попадают люди самых разных возрастов, необходимо создание новых эффективных кардиопротекторных средств. На наш взгляд, препараты боярышника, позволяют наиболее полно достичь этих целей, так как обладают высокой степенью безопасности. В последующем можно создать комплексное средство, содержащее помимо веществ из боярышника также компоненты Melissa лекарственной, обладающие седативным, противотревожным, спазмолитическим и иммуномодулирующим действием.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1

1. Расширение сырьевой базы для заготовки сырья боярышника возможно за счет видов, культивируемых на территории РФ, таких как боярышник мягковатый (полумягкий).

2. Молодые неодревесневшие побеги, у которых не сформировалась древесина первичной коры, заготавливаемые в фазу вегетации «цветение» высокоперспективны в качестве лекарственного растительного сырья.

3. В настоящее время морфолого-анатомическая и фитохимическая характеристика побегов боярышника мягковатого изучена не в полной мере; сведения о составе листьев имеют неполное значение, что требует дальнейшего рассмотрения. В свою очередь, потенциальное ЛРС неодревесневшие побеги представляет собой смесь из листовых пластин, черешков, цветков, бутонов, молодых стеблей, у которых не сформировалась древесина первичной коры. Таким образом, побеги сочетают в себе химические свойства цветков и листьев, причем чаще фитомасса листьев значительно больше. Для цветков при этом характерны флавоноиды гиперозид, рутин, 2''-О-рамнозид витексина, для листьев описаны гиперозид, кверцетин, рутин.

4. В настоящее время особую актуальность имеют исследования в области создания импортозамещающих средств, изготовленных из сырья боярышника, которые могут отвечать потребностям в терапии болезней сердца.

5. Для вновь вводимых в практики препаратов требуется разработка подходов к их стандартизации.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Краткий обзор объектов эксперимента, задействованных в ходе исследования

В виде объектов данного эксперимента были использованы образцы представителей боярышника. Образцы подлежали заготовке с 2019 года по 2022 года. Использованные образцы отображены в таблице 5.

Таблица 5 – Образцы ЛРС исследованных видов рода Боярышник

Сырьё	Видовая принадлежность	Место и период сборки
Листья	<i>C. sanguinea</i>	Ботанический сад Самарского университета в 2019-2022 гг.
	<i>C. submollis</i>	
	<i>C. monogyna</i>	
Цветки	<i>C. sanguinea</i>	Ботанический сад Самарского университета в 2019-2022 гг.
	<i>C. sanguinea</i>	
	<i>C. submollis</i>	
Побеги	<i>C. sanguinea</i>	Ботанический сад Самарского университета в 2019-2022 гг.
	<i>C. sanguinea</i>	
	<i>C. submollis</i>	
Плоды	<i>C. submollis</i>	Ботанический сад Самарского университета в 2019-2022 гг.

Сбор цветков, листьев и побегов проводился в мае на стадии цветения растений. Побеги заготавливались только однолетние без одревесневшей части стеблей. Плоды боярышника мягковатого были заготовлены в сентябре месяце на стадии созревания и использованы для получения сока. В качестве образца сравнения нами был использован промышленный образец препарата «Боярышника плодов настойка» ООО «БЭГРИФ», Серия 040421.

Образцы сырья подлежали сушке воздушно-теневым методом. Сырье было использовано для получения различных извлечений и образцов потенциальных лекарственных средств:

- Настойка листьев боярышника мягковатого, которая была получена в условиях лаборатории, с соотношением сырья 1:10;
- Спирто-водные (70 %) извлечения листьев, цветков и побегов;
- Густые экстракты побегов 1:1, произведенные в условиях лаборатории;
- Массы для прессования, изготовленные из густых экстрактов в присутствии пектина с лактозой.

Набор устройств и установок, а также реактивов, которые были задействованы при постановке эксперимента:

- Прибор для аналитического взвешивания – модель САРТОГОСМ ЛВ 210-А;
- Прибор для спектроскопии – модель SPECORD-40822-00401-2 АJ;
- Электронный термостат – модель ТС-1/80 СПУ;
- Прибор нагревательный – Aceline;
- Воронка с открытым выходным стволом диаметром 10 мм ± 0,01 мм;
- Химическая установка островная цельнометаллическая DEKraft C25;
- Прибор для регистрации спектров высокого разрешения Jeol JNM ECX-40, Брукер микрОТОФ II;
- Вентилятор лабораторный канальный Soler & Palau TD-500/150-160 SILENT 3 V;
- Двухрамный вытяжной шкаф со столешницей из химстойкого пластика НВ-1500 ШВд-СПБ;
- Установка испарения ротора «Labtex ИР-1 ЛТ»;
- Прибор для дистилляции – модель АЭ-14-«Я-ФП»-01;
- Плитка для нагревания – модель Evender effecting idea HI-TECH, модель Magnit;

- Подвижная фаза хроматографическая метилтрихлорид- этилгидрат- вода;
- Капилляры для нанесения на хроматографические пластины Plastic Capillaries 12 μ l, BST GmbH;
- Аналитические пластины Sorbfil PTSX-AF-A-UV 10X15 (TU 26-11-17-89);
- Прибор вакуумного фильтрования Rocker 300 - LF 30;
- Анализатор жидкости пламенный фотометрический ПАЖ-1 3959-73 31.01;
- Фотометр фотоэлектрический КФК-3-01 (ЗОМЗ) однолучевой;
- Прибор для жидкосной хроматографии модели Milichrom-6;
- Шприцевые фильтры Minisart® SRP25 Filter 17576-K, 0.45 μ m hydrophobic PTFE;
- Виалы хроматографические 0,3 мл, ПП, прозрачная, 12 \times 32 мм, горло винтовое, Zhejiang ALWSCI Technologies;
- Колонка аналитическая хроматографическая 6-80-4 (сорбент Сепарон С-18, 7 мкм), №250752397 – 0154100006022000068, эффективность не ниже 4000 т.г.;
- Микроскоп модели Мотик (ДМ – 1802, ДМ – 39 С – Н9ГО – А);
- Микроскоп с люминесцентным детектированием Altami LUM-2;
- Микроскоп цифровой Карл Цейс ZEN 2;
- Для создания микропрепаратов микротом – модель Rotary Microtom Manual Thermo Scientific HM 325;
- Бумага фильтровальная лабораторная марки ФБ-III, ФС-III, Ф, ФОБ-III, ФМ-III;
- Спирт этиловый (этилгидрат) – химически чистый 96 % концентрации, разведение проводилось в соответствии с алкалометрической таблицей ГФ РФ XIV [20] ООО «Гиппократ»;

- Хлороформ (метилтрихлорид, трихлорметан) – химически чистый ООО «Гиппократ»;
- Раствор diazobenzolсульфо кислоты (ДСК), приготавливаемый путем растворения 0,01 г diazobenzolсульфо кислоты в 10 мл натрия карбоната 10 % раствора.
- Хлористый алюминий 5 % спиртовой;
- Ацетонитрил (нитрил уксусной кислоты, этаннитрил) – химически чистый, ООО «Гиппократ»;
- Ацетон (пропанон) – чистый для анализа, ООО «Экохимтех» ЗАО «Химреактив»;
- Уксусная кислота (этановая кислота, ацетат водорода) – химически чистая, «klo union k.p. klarny kavalier zavod DRZKOV».

2.2. Обзор методов эксперимента, задействованных в ходе исследования

2.2.1. Методы анатомо-гистологического анализа

При выполнении задач данного диссертационного исследования проводился анализ анатомических и гистологических особенностей побегов вышеперечисленных представителей *Crataegus*, которые привели в сухой вид посредством воздушно-теновой сушки. После этого побеги осматривали в присутствии естественного освещения с использованием лупы: измерялись размеры листовой пластины, черешка, бутонов, цветков (подчиняясь правилам системы единиц физических величин), невооруженным глазом оценивалась окраска образцов, при разламывании определяли запах, определялись пищевкусовые свойства при употреблении водного извлечения.

Также все указанные виды сырья подвергали микроскопическому исследованию при полном соблюдении условий, установленных требованиями ГФ РФ XIV издания. Пробоподготовку образцов перед проведением микроскопического анализа выполняли следующим образом: свежесобранные

побеги размещали в смеси состава 1 часть спирта этилового 95%, 1 часть глицерина ректифицированного и 1 часть воды очищенной [25, 97, 121].

При проведении анализа анатомических и гистологических особенностей пользовались методикой белого поля с проходящим светом, при этом эквивалентное фокусное расстояние составляло $\times 4$, $\times 40$, $\times 100$. Подготовку предметного стекла с объектом на нем для дальнейшего рассмотрения реализовывали с применением игл препаровальных, скальпеля и фильтровальной бумаги. Для выполнения исследования по петиолярной анатомии срезы черешка выполняли микротомом с использованием только оригинальных режущих приспособлений, добиваясь среза размером до 35 мкм. Компьютерное представление гистологических структур и нахождение линейных размеров производилось с применением пакета прикладных программ Imaging Software for Microscopy ZEN core V2.7. Окрашивание препаримуемых тканей при осуществлении гистохимических реакций 0,5 % раствором Судана III проявлялось при нахождении в данных гистологических структурах липофильных соединений (кутикулярный слой эпидермиса в розовато-оранжевый цвет), 5 % раствором сернокислого анилина – лигнифицированных соединений (лигнификация клеток) [25].

2.2.2. Химические методы анализа

При решении задачи определения ведущих групп БАС были использованы следующие реакции (табл. 6).

Таблица 6 – Качественные реакции на группы БАС

Реагент	Эффект
<i>Хлористое железо</i>	Черное окрашивание с выпадением осадка: фенольные соединения дубильные вещества [11, 25, 40, 46, 49]

<i>Гидроокись натрия</i>	Потемнение окраски исследуемого раствора: фенольные соединения [11, 25, 40, 49]
<i>Цианидиновая реакция (проба Shinoda)</i>	Красно-малиновое окрашивание: флавоноиды [25, 40, 45, 49]
<i>Хлористый алюминий</i>	Желтое окрашивание с желто-зеленой флуоресценцией: флавоноиды [25, 40, 46, 49]
<i>Реакция Сальковского</i>	Окраска от желтой до синей: сапонины [25, 40, 46, 49]
<i>Кислотный гидролиз</i>	Разделение углеводов с применением хроматографии на бумаге: гликозиды

2.2.3. Хроматографические методы анализа

1. Хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ).

Хроматография вещества в тонком слое сорбента была использована нами в случае необходимости качественной оценки водно-спиртовых извлечений представителей рода *Crataegus*, кроме этого, для контроля выделения индивидуальных структур при использовании колоночной хроматографии [25, 125].

При этом в процессе хроматографирования использовались аналитические пластины Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ. Непосредственно перед нанесением пластины аналитические термостатировались в температурном режиме 100-105 °С с целью испарения излишков влаги.

При подготовке к хроматографированию камеру насыщали парами подвижной фазы в течение 60 минут.

Испытуемые растворы наносились на линию старта аналитической пластины при помощи капилляров. Затем пластину аккуратно размещали в подвижной фазе и хроматографировали восходящим способом. Точкой завершения хроматографирования считали линией прохождения элюэнта фронта пластины, примерно равному 1 см от конца.

Далее аналитическая пластина подвергалась термостатированию при режиме не более 40° С для удаления остатка элюэнта. После чего готовую хроматограмму осматривали невооруженным глазом, а также с использованием ультрафиолетового света $\lambda=254$ нм, а также $\lambda=366$ нм. Помимо этого, пластины были обработаны раствором хлористого алюминия 10 %, затем ДСК.

2. Адсорбционная жидкостная колоночная хроматография.

С целью проведения эксперимента по изучению химических структур, которые являются компонентами листьев *C. submollis* была использована препаративная колоночная хроматография. Для изучения данных компонентов была подготовлена настойка листьев *C. submollis*, готовый продукт в виде 900 мл настойки доводили на ротационном испарителе до 50 мл объема. Далее проводили колоночную хроматографию в делительной воронке с объемом на 500 мл. В воронку последовательно размещали тампон ваты, силикагель (фракция 0,04-0,10 мм), смесь силикагеля с упаренной настойкой, тампон ваты со стеклянной палочкой, препятствующий поднятию ваты на поверхность. Далее колонку поэтапно подвергали элюированию подвижной фазой трихлорметана, смесью трихлорметана и этилгидрата с концентрацией 96%, в последнюю очередь водой дистиллированной.

Полученные фракции упаривали на ротационном испарителе и затем исследовали с помощью других физико-химических методов. В процессе эксперимента были получены фракции, которые содержали отдельные биологически активные вещества, иногда смеси нескольких БАС в одной фракции.

В этом случае испытуемые фракции после тщательного упаривания и дополнительной пробоподготовки подвергались рехроматографии и перекристаллизации. В результате данного эксперимента были получены субстанции веществ в чистом виде, которые в дальнейшем были исследованы дополнительно с целью определения химической структуры [49, 52].

3. Жидкостная хроматография высокой эффективности (ВЭЖХ).

Жидкостная хроматография высокого давления (высокой эффективности) выполнялась с использованием микроколоночного хроматографа Milichrom-6. Для проведения эксперимента проводили пробоподготовку образцов: из листьев *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* подготавливали извлечения по нижеописанной схеме. Извлечения фильтровали через бумажный беззольный фильтр, через фильтр, соединенный с вакуумной установкой посредством колбы Бунзена, а также шприцевой фильтр Minisart с целью предупреждения попадания в колонку пыли и других нежелательных примесей и помещали в вials. Далее проводили хроматографирование. В ходе эксперимента был выбран обращенно-фазный режим хроматографирования с использованием градиента подвижной фазы в виде смеси нитрила уксусной кислоты и воды в различных комбинациях. Для исключения нестабильности времени удерживания добавляли 1 % водный раствор кислоты этановой. Поток смеси элюента подавался через шприц со скоростью 100 мкл/мин. При этом объем элюента составил 2000 мкл, объем пробы 2-6 мкл. Применялся ультрафиолетовый детектор с $\lambda=360$ нм [25, 107, 108, 110].

2.2.4. Физико-химические методы анализа

1. Спектрофотометрия.

С применением спектроскопии в ультрафиолетовой области в результате эксперимента было изучено содержание веществ фенольной природы. С целью проведения эксперимента из сырья изготавливались извлечения, которые в дальнейшем подвергали анализу. Кроме того, данным методом проводили анализ

выделенных путем проведения колоночной хроматографии индивидуальных соединений из листьев *C. submollis*. Также спектроскопия в ультрафиолетовой области была использована для разработки количественного определения. Эксперимент по определению экстинкции испытуемых растворов выполняли с применением спектрофотометра SPECORD-40822-00401-2 AJ, при определении меры поглощения света раствора длина волны находилась в пределах от 190 до 360 нм. Толщина слоя кюветы составила 10 мм. Компьютерное представление результатов определения проводилось с использованием пакета прикладных программ «WinAspect Excel» [11, 14, 25, 65, 114-118].

Суммарное количество флавоноидов в различных видах сырья *Crataegus* было определено по следующим методикам:

Методика анализа суммы флавоноидов в цветках, листьях и побегах боярышника. Аналитическую пробу, состоящую из испытуемого сырья, размельчают, доводя до размера частиц 2 мм. Около 1,0 г сырья (точная навеска) размельченного сырья помещают в колбу со шлифом объемом 250 мл, приливают 100 мл 70% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарирных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на нагретой до кипения водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 минут. Затем колбу подвергают охлаждению в течение 30 минут при комнатной температуре, закрывают той же пробкой снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначального объема. Извлечение подвергают фильтрации через тампон ваты или фильтр бумажный обеззоленный для анализа с красной лентой, отбрасывая первые 5 мл (извлечение из цветков). Испытуемый раствор для анализа флавоноидов готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу объемом 25 мл, прибавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлористого и доводят объем раствора до метки 70% этиловым спиртом (испытуемый раствор А). Раствор сравнения готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки 70% этиловым спиртом (раствор сравнения А).

Суммарное количество флавоноидов (X в процентах) определяют в пересчете на (гиперозид) кверцетин-3-О-галактозид и абсолютно сухое сырье, при этом используют для вычислений теоретическое значение его удельного показателя поглощения, равное 330. Расчет проводят для листьев, цветков и побегов по формуле:

$$X = \frac{A \times 100 \times 25 \times 100}{330 \times m \times 1 \times (100 - W)};$$

где:

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

330 – удельный показатель поглощения гиперозида;

m – масса сырья, в граммах;

W – потеря в массе при высушивании, в процентах.

С целью вычисления суммарного содержания флавоноидов с учетом пересчета на 2''-О-рамнозид витексина и абсолютно сухое сырье определяют меру поглощения света испытуемого раствора при $\lambda=392$ нм спустя 40 минут после приготовления. Суммарное количество флавоноидов для листьев и побегов вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times 100 \times 25 \times 100}{232 \times m \times 1 \times (100 - W)};$$

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

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

m – масса сырья, в граммах;

W – потеря в массе при высушивании, в процентах.

Методика анализа настойки плодов боярышника мягковатого. 1 мл изготовленной ранее настойки из плодов боярышника, приливают в мерную колбу на 50 мл, затем приливают этилгидрат 70% до метки (испытуемый раствор). Как раствор сравнения используют этилгидрат 70%.

Меру поглощения света испытуемых образцов устанавливают при $\lambda=282$ нм непосредственно после того, как те были изготовлены. Полученное значение меры

поглощения света в дальнейшем используют в формуле вычисления суммарного содержания флавоноидов с учетом пересчета на катехин [25, 65]:

$$X = \frac{A \times 50}{144 \times V};$$

где:

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

144 – удельный показатель поглощения катехина;

V – объем взятой для анализа настойки, мл.

2. ЯМР-спектроскопия

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса является собой спектроскопический метод рассмотрения и оценки топических магнитных излучений вокруг протонов и нейтронов атомных ядер. Образец помещали в поле магнита и производили ЯМР-сигнал путем возбуждения образца ядер радиоволнами в ядерный магнитный резонанс, который регистрировали чувствительными радиоприемниками ненулевых магнитных моментов ^1H и ^{13}C [38, 49].

3. Масс-спектральный анализ

Представляет собой качественный масс-спектральный анализ, основанный на определении массы ионов. Применялся нами для индивидуальных соединений, выделенных в ходе колоночной хроматографии. Высокоразрешительные спектры были получены с помощью электрораспылительной ионизации [49].

3. Температура плавления

Точка плавления полученных индивидуальных структур была найдена с применением нагревательной установки по методу Кофлера [49].

2.2.5. Технологические методы

Получение густого экстракта побегов боярышника. Сборку побегов проводили в фазу вегетационного периода цветения. Высушенные на воздухе побеги *C. sanguineae*, *C. submollis*, *C. monogyna* были использованы для получения жидких экстрактов с использованием 1 части 70% этанола и 1 части сырья. Жидкие экстракты изготовили методом модифицированной мацерации с нагреванием до кипения на последней стадии [9, 16, 71, 75, 89].

При этом 100 г высушенных воздушно-теневым способом побегов боярышника помещали колбу на 500 мл, приливали 150 мл этанола 70%, затем подвергали настаиванию в течение 24 часов. Далее во второй день добавляли в эту же колбу 30 мл этанола 70% и настаивали в течение двух суток. На четвертый день сливали из колбы полученное извлечение в количестве 30 мл (готовый продукт) и снова заливали свежую порцию экстрагента в количестве 30 мл. На шестой день сливали из колбы еще 30 мл извлечения (готовый продукт), объединяя его с первой порцией экстракта. После чего снова заливали в колбу 40 мл свежей порции 70% этилового спирта и оставляли на сутки. На седьмой день содержимое колбы сильно прогревали на водяной бане до кипения и после остывания сливали 40 мл извлечения (готовый продукт), объединяя его с первыми двумя порциями. Полученный жидкий экстракт отстаивали при термостатировании в течение 3 суток при режиме с температурой, не превышающей 8 °С. После отстаивания жидкий экстракт профильтровывали и удаляли экстрагент с помощью ротационного аппарата под вакуумом. Полученный густой экстракт содержал не более 25% влаги и соответствовал всем требованиям, предъявляемым к густым экстрактам [25].

Оценку качества полученных густых экстрактов проводили путем определения суммы флавоноидов. Определение суммарного количества флавоноидов проводилось с использованием авторского метода дифференциальной спектрофотометрии, опубликованного ранее [120]. Определение оптической плотности проводилось при 412 нм (для определения

суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид) и 392 нм (для определения суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозида витексин).

Получение сыпучих масс с экстрактом побегов боярышника. Густые экстракты побегов боярышника кроваво-красного, однопестичного и мягковатого последовательно смешивали и растирали в фарфоровой ступке с тройным количеством (по массе) измельченного пектина, полученного ранее осаждением из сока плодов боярышника мягковатого и лактозы. После чего полученную массу высушивали и анализировали с целью расчета количественных определения суммарных показателей флавоноидов. Для расчета суммарного количества флавоноидов в сыпучих массах, состоящих из пектина, лактозы и густых экстрактов побегов боярышника кроваво-красного, побегов боярышника однопестичного и побегов боярышника мягковатого применяли методики, аналогичные методикам соответствующих густых экстрактов [71, 104].

Для определения сыпучести смеси использовали воронку с открытым выходным стволом диаметром 10 мм ± 0,01 мм. В воронку помещали массу навеской 10 г и засекали время, исследование проводили три раза [25].

Получение настойки плодов боярышника мягковатого. Настойки плодов боярышника полумягкого были получены с помощью 70% этилового спирта из разного по подготовке сырья в точно таких же условиях с учетом соотношения 1 часть сырья и 5 частей экстрагента методом бисмацерации. Сырьем для получения настойки служили измельченные высушенные плоды боярышника мягковатого и высушенный жом, оставшийся после получения сока из свежих плодов. Настойку получали, заливая порциями экстрагента сырье, а затем сливая и объединяя полученные извлечения.

Объединенное извлечение отстаивали в холодильнике в течение 3 суток, после чего тщательно профильтровали во флакон темного стекла для хранения. Оценку количества суммарного содержания флавоноидов в полученном продукте определяли с применением прямой спектроскопии в ультрафиолетовой области с учетом пересчета на катехин ($\lambda=282$ нм).

2.2.6. Фармакологические методы анализа

В связи с целью определения рациональности к рекомендации изготовления новых потенциальных препаратов, а именно густых экстрактов, из исследуемого сырья, был проведен эксперимент по уточнению медикаментозного действия изготовленных ЛП. Для этого был проведен эксперимент с лабораторными животными. Для исследования отбирали белых лабораторных крыс, масса тела которых колеблется от 200 до 250 г, находящихся в стандартных условиях по режиму питания и ухода. Животных в количестве тридцати особей разделяли на группу, которой вводили целевой раствор ЛП, группу, получавшую сравнительный препарат, и группу контрольного опыта [22, 79, 111].

Вначале всем животным за 24 часа до проведения эксперимента вводилась нагрузка воды, составляющая примерно 3 % от массы тела. При определении диуретического действия экспериментальных экстрактов по истечении 24 часов после введения 3 % объема от массы животного водной нагрузки, испытываемой группе крыс вводили внутривентрикулярно, предварительно разведя в воде, составлявшей также 3 % от массы животного, нагрузку препарата с дозировкой 10 мг/кг. Напротив, вторая группа животных получала растворенный в воде фуросемид дозировкой 1 мг/кг в 4-х ч. эксперименте, а в 24-х ч. – гипотиазид в дозировке 20 мг/кг. Сбор мочи осуществлялся далее через 4 и 24 часа. Затем фиксировали экскрецию почками воды, креатинина используя приборы ПАЖ-1 и КФК-3. Статистические оценки были посчитаны с использованием критерия Манна-Уитни и пакета прикладных программ IBMSPSS AdvancedStatistics 24.0 №5725-A54 [22, 79, 111].

Эксперимент по оценке антидепрессантного действия густых экстрактов из побегов осуществлялся при выполнении поведенческого теста Порсолта [53, 72, 73, 124, 125]. Для этого густые экстракты дозировкой 50 мг/кг были разведены в воде, объемом, равному примерно 3% от массы тела крысы. После этого растворы были даны животным. Одновременно с этим группе контроля вводили воду очищенную в объеме примерно равному 7,5 мл. Сравнение результата интерпретировались по

отношению к амитриптилину в дозе 5 мг/кг. Плавание по Порсолту проводили спустя 60 минут после получениями животными препаратов и засчитывали время попытки крыс выплыть на поверхность. Таким образом, оценивали реакцию грызуна на угрозу утопления, результат которого был интерпретирован как измерение восприимчивости к негативному настроению.

2.2.7. Статистические методы анализа

Статобработка данных, полученных в ходе проведения эксперимента, выполнялась с использованием вариационной статистики, основанной на расчете числовых показателей функциональных параметров эмпирического распределения в однородных совокупностях. При расчете параметров метрологии применяли критерий Стьюдента. С этой целью были исчислены следующие показатели:

- Значение определяемого при количественном анализе содержания флавоноидов: среднее значение содержания флавоноидов – \bar{x} ;
- Среднее квадратичное отклонение – S ;
- Дисперсию – S^2 , характеризующую воспроизводимость результата;
- Доверительный интервал среднего значения $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, где $\Delta \bar{x}$ – полуширина доверительного интервала;
- Процентную ошибку среднего результата ε .

Обработка статистических данных проводилась при соблюдении регламента ГФ РФ VIХ издания с применением пакета прикладных программ ChemMetr 1.0 [17, 25].

Также в ходе проведения валидационной оценки предлагаемых методик оценивались следующие характеристики:

- Специфичность – способность конкретного метода анализа определять целевое вещество в присутствии других компонентов и примесей (определялась по схождению максимумов поглощения длин волн суммарного количества флавоноидов густого экстракта *C. submollis* и гиперозида, *C. sanguinea* и 2''-О-рамнозид витексина).

– Линейность – присутствие линейности в зависимости сигнала от суммарного количества флавоноидов в образце (определяли в отношении растворов с известными концентрациями).

– Правильность – близость всех анализируемых результатов к одному значению (определяли методом добавок).

– Прецизионность – близость результатов независимых измерений в какой-либо серии эксперимента (проводили в разных лабораториях разными аналитиками с соблюдением одинаковых условий эксперимента).

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПОБЕГОВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *CRATAEGUS* L.

Как показывают исследования отечественных и зарубежных ученых, побеги различных видов боярышника, являются ценными ресурсами для дальнейшего изготовления лекарственных препаратов в фармацевтической промышленности. Поэтому проведение морфолого-анатомического анализа побегов различных видов рода Боярышник (*Crataegus* sp.), собранных в фазу цветения растения, необходимо для надлежащей оценки качества ЛРС. Как уже сообщалось, подробный сравнительный морфолого-анатомический анализ побегов дикорастущих для РФ видов боярышника был проведен ранее московскими авторами. Поэтому мы изучали побеги боярышника мягковатого, который ранее подробно не изучались, в сравнительном аспекте с побегами других видов, типичными для РФ – побегами боярышника кроваво-красного и побегами боярышника однопестичного.

3.1. Внешние признаки высушенных побегов некоторых представителей рода *Crataegus* L.

Побеги были собраны в фазу вегетационного периода цветения и подвергнуты воздушно-теневого методу сушки. Сырье, являющее собой верхушки зеленых побегов древесных жизненных форм многолетних растений, представлено цельными листовыми пластинами, черешками, стеблями без ярко выраженных признаков одревеснения, цветками, иногда бутонами, кроме того, встречаются частично измельченные прицветники и прилистники (рис. 5-7). Запах на разлом сырья оценивается нами как резкий, неприятный. Сырье имеет специфичный запах, схожий с диэтиламином. Вкусовые качества извлечения водой извлечения горьковатый.



**Рисунок 5 – Побеги
боярышника кроваво-
красного**



**Рисунок 6 – Побеги
боярышника
однопестичного**



**Рисунок 7 – Побеги
боярышника
мягковатого**

На молодых стеблях, без выраженного присутствия древесины, имеющих ярко-зеленый окрас, виднеются беловатые и светло-коричневые пятна. Наибольшее скопление пятен заметно на дорзальной плоскости. Дорзовентральные плоскости реберчатые. Поверхность стеблей *C. sanguinea* покрыта одиночными трихомами, напротив *C. monogyna* – голая.

Листья простые дорзовентральные имеют типичное для представителей семейства *Rosaceae* схему строения. Имеется собственно листовая пластина, начинающая рост от суженного основания черешка, соединяющего лист со стеблем. Основание листа расширяется в виде двусторонне симметричных косых листовидных образований – прилистников. Проводящие пучки, образующие проводящую системы от стебля, имеют перистое разветвление. Очередное расположение листьев позволяет сложить листовую мозаику. Следует отметить, что на момент сбора сырья (в период цветения боярышника) они еще не полностью сформированы.

Лист *C. sanguinea* в очертании очерчивают обратнойцевидную форму. На протяжении листовой пластины вырезы по краям доходят $\frac{1}{3}$ от ширины полулиста, что дает сделать заключение о лопастной листовой пластине, количество лопастей при этом 3-7, край листовой пластины пильчатый с острыми углами. Трихомы единичные, наибольшее скопление выростов наблюдается на центральной жилке.

Листовая пластина *C. monogyna* – обратнойцевидной формы. При этом лист расчленен вплоть до $\frac{1}{2}$ ширины полулиста, то есть разделенный, членистость

разделения составляет 3-5. По краю листовая пластина имеет зубцы, опушение края отсутствует. С поверхности листовой пластины наблюдаются простые трихомы с дорзальной стороны листа и центральной жилке.

Листовая пластина *C. submollis* имеет обратнойцевидную форму. Вместе с тем вырезы этой листовой пластины занимают $\frac{1}{3}$ от ширины полулиста, таким образом, лист лопастной. Имеется 3-4 пары симметричных острых лопастей. Край листа часто зубчатый или двоякозубчатый.

При этом, черешки листьев *C. sanguinea* и *C. monogyna* имеют трихомальные одноклеточные выросты только лишь в вентральной части. Напротив, обильное опушение одноклеточными простыми трихомами наблюдается у всех морфологических структур листа *C. submollis*. Форма прилистников серповидная. Края прилистников железисто-пильчатые. Следует отметить, что листья в сырье побегов боярышника после процесса высушивания становятся очень хрупкими и редко остаются целыми. Часто в сырье можно наблюдать фрагменты листовых пластинок.

Цветки боярышника, собираются в соцветия щитки. Наиболее плотные щитки у боярышника кроваво-красного. У боярышника однопестичного соцветия малоцветковые. У боярышника мягковатого цветки на длинных цветоносах. Чашечка пятичленная, как и венчик, околоцветник относят к сложным, тычинок при этом 20, столбиков от 3 до 5. Лепестки белесые. Цветки, которые подверглись сушке становились желтоватыми.

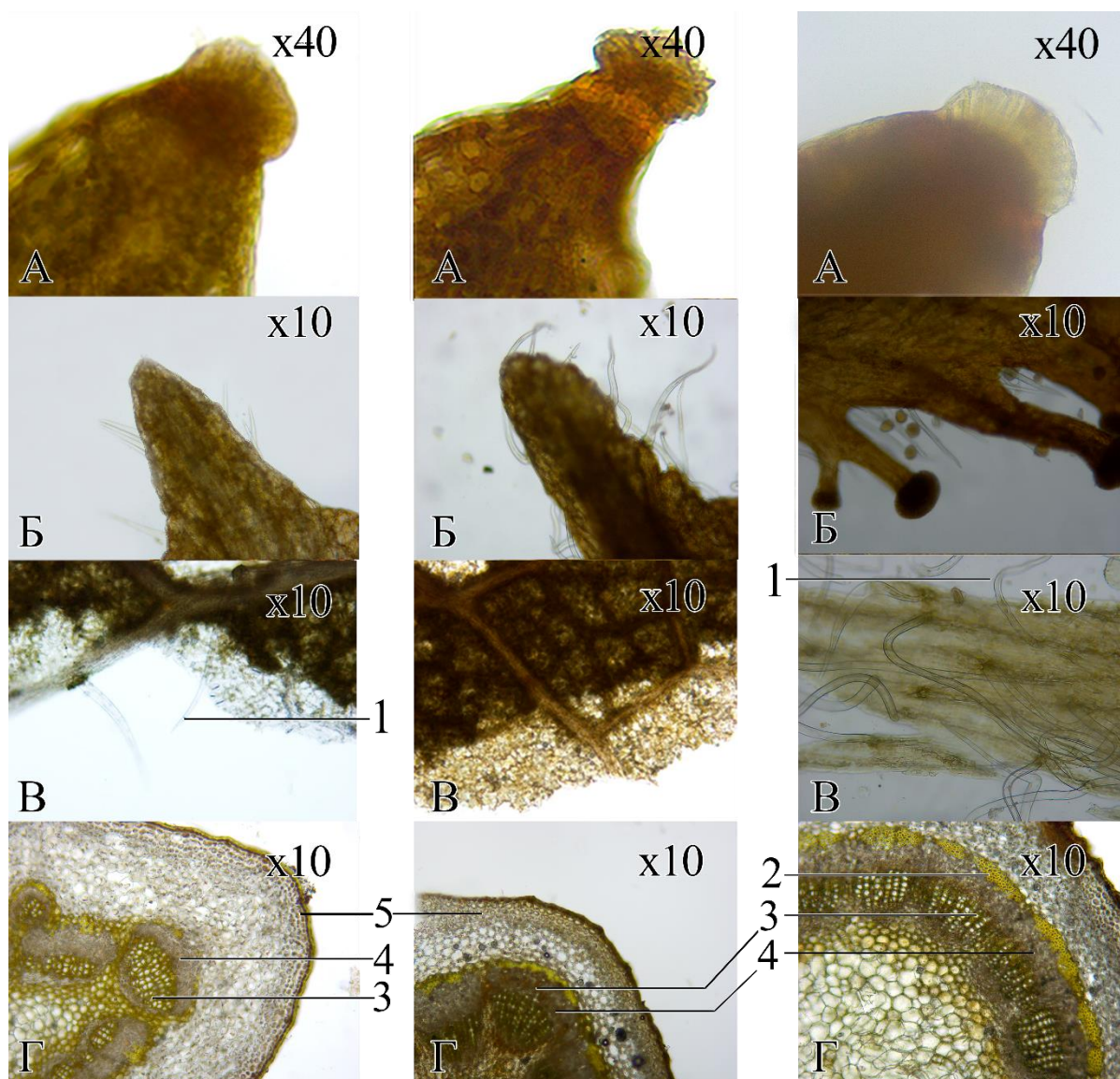
Опушение на цветоножках *C. sanguinea* немногочисленное, цветоножки *C. monogyna* – голые. Также как и лист, генеративный орган *C. submollis* густоопушен одноклеточными трихомами. Это качается прежде всего чашечки, которая имеет самое обильное опушение. Чашечки других видов имеют содержат меньшее количество трихом. По краю чашелистика *C. submollis* расположены железки с коричневыми головками. Другие виды характеризуются отсутствием железок у чашелистиков.

3.2. Микроскопические признаки некоторых представителей рода *Crataegus* L.

С поверхности эпидермиса листа представлен клетками угловатой формы. При этом клеточная стенка имеет борозды и слегка утолщена. По нижнему эпидермису заметны скопления устьиц. Клеточные стенки нижнего эпидермиса извилистые (рис. 8 В). С дорсальной и вентральной сторон листовых пластинок виднеются одноклеточные трихомы. На зубцах листа по краю располагаются железки с сидячими ножками. Головки железок имеют коричневатый протопласт. Однако железки лучше прослеживаются по листовым пластинам *C. submollis* и *C. sanguinea* (рис. 4 А). Напротив, *C. monogyna* имеет наименьшее скопление железок на зубцах, в иных случаях они проявляются не определенно.

У прилистников наблюдаются простые одноклеточные трихомы и железки, внутри которых расположен светло-бурый протопласт (рис. 8Б). На подушечке листа рядом с соединением стебля железки прикрепляются к прилистнику с помощью многоклеточный утолщений, у апекса прилистника железки не имеют ножек, а прикрепляются к самому прилистнику. Как и в случае с листовыми пластинами, большее количество железок и кроющих трихом наблюдается у морфологических структур *C. submollis* (рис. 8 А).

Покровная ткань молодого стебля представлена эпидермисом с плотно прилегающими межклетниками. Клетки эпидермиса вытянуты, характерно начало процесса формирования образований в виде бугорка, предназначенного для газообмена – чечевичек. На эпидермисе также располагаются кроющие одноклеточные трихомы. Эпидермис склонен к кутинизации ткани, под покровной тканью расположена армирующая колленхима уголкового формы с неравномерными утолщениями клеточной стенки. В центре стебля расположены открытые коллатеральные пучки, вокруг которых находится основная паренхима (рис. 8 Г). Центральный цилиндр упрочнен склеренхимной тканью, под которой расположены лубяные волокна флоэмы. Фрагменты ксилемы и склеренхимы окрашиваются в желтый цвет при применении раствора сернокислого анилина.



Побеги *C.sanguinea*

Побеги *C.monogyna*

Побеги *C.submollis*

Рисунок 8 – Гистологические особенности побегов:

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

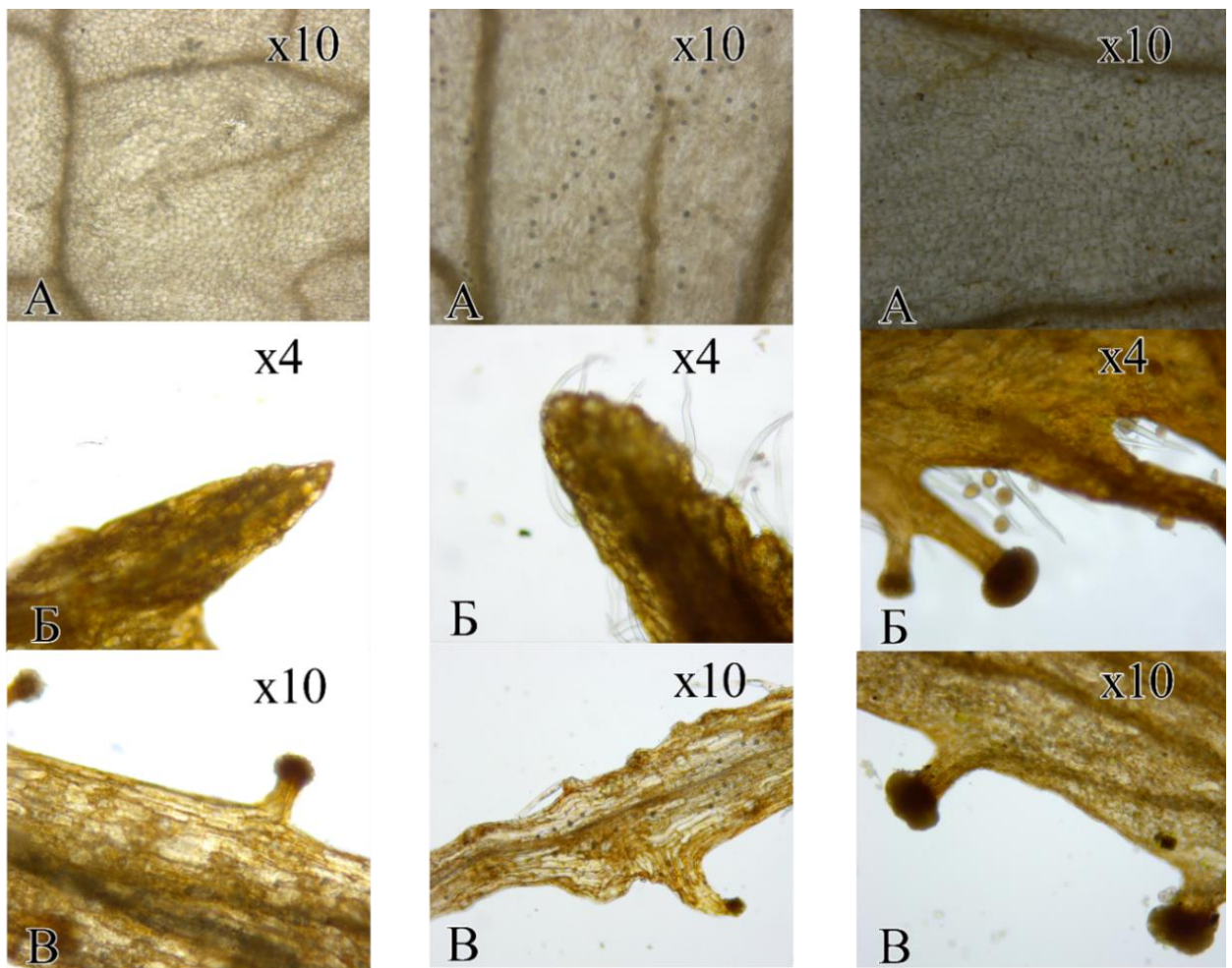
Г – Поперечный срез стебля, обработка сернокислым анилином

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

Покровная ткань лепестка представлена эпидермисом. На внутренней стороне у каждого вида присутствуют сосочковидные образования (рис. 9 А). Поверхность чашелистиков характеризуется обильным наличием одноклеточных трихом, а также устьичных аппаратов. Железки с бурым протопластом в головке находятся у чашелистиков *C. submollis* (рис. 9 Б), при этом железки расположены

на многоклеточной ножке или сидя. Клетки, образующие ножки железок, имеют извилистость и в ряде случаев составляют деформированные ножки, склоненные в сторону апекса чашелистика. Так, порой, заметны ножки, разветвленные вилкообразно, и на одной ножке расположены сразу две головки.

Клетки прицветников состоят из вытянутых стенок. У края имеются многоклеточные железки с бурым протопластом и одноклеточные трихомы, наиболее заметные у *C. submollis*. Прицветники *C. monogyna* обеднены железками, по сравнению с *C. submollis* и *C. sanguinea* (рис. 9 В).



Побеги *C.sanguinea*

Побеги *C.monogyna*

Побеги *C.submollis*

Рисунок 9 – Гистологические особенности цветков:

А – Лепесток; Б – Чашелистик; В – Край прицветника

Недревесневший стебель боярышника мягковатого с заметным опушением на поверхности. На поперечном срезе наблюдаются открытые коллатеральные пучки. (рис. 10). Центральный цилиндр характеризуется наличием склеренхимы, покрывающей флоэму. Присутствуют одиночные кристаллы оксалата кальция.

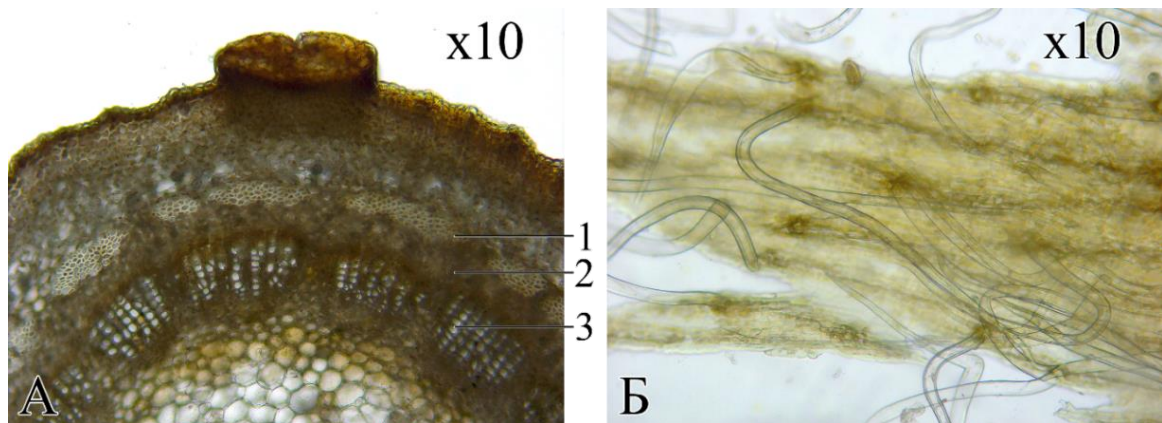


Рисунок 10 – Недревесневевший стебель *C. submollis*:

А – поперечный срез; Б – эпидермис.

Обозначения: 1 – склеренхима; 2 – флоэма; 3 – ксилема.

Представляет интерес также петиолярная анатомия черешка боярышника мягковатого (рис. 11). Базальная часть у *C. submollis* 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. Центральный цилиндр имеет закрытый коллатеральный пучок в форме серпа. Под слоем эпидермиса расположена уголковая колленхима. На протяжении всего черешка с верхней и нижней стороны имеется обильное опушение простыми волосками.

При этом морфологические структуры сырья характеризуются накоплением оксалата кальция (рис. 12).

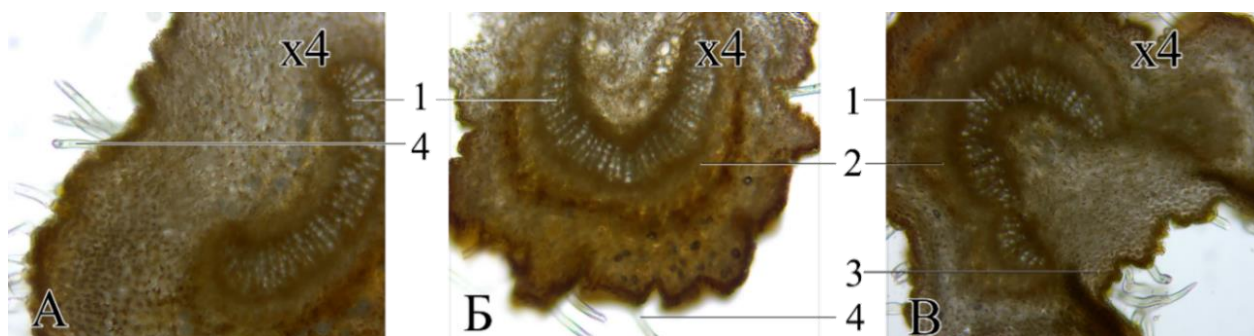


Рисунок 11 – Гистологические особенности петиолярной анатомии *C. submollis*:

А – Базальная часть; Б – Медиальная часть; В – Апикальная часть
 Обозначения: 1 – ксилема; 2 – флоэма; 3 – колленхима; 4 – волоски

Характерными отличиями в микроскопической картине сырья трех видов боярышника являются особенности опушения (рис. 13). В отличие от других исследуемых видов опушение морфологических структур *C. submollis* в наибольшей степени обильное: преимущественно одноклеточные трихомы покрывают стебли, цветоножки, цветоложе и листья. Одноклеточные волоски *C. sanguinea* обнаруживаются гораздо меньше, тогда как структуры *C. monogyna* обделены трихомами.

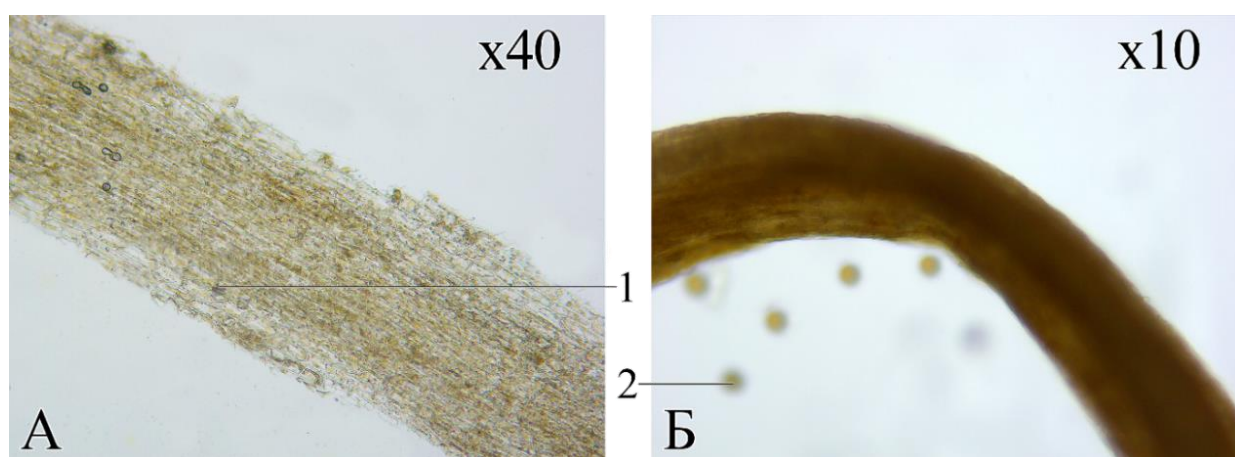


Рисунок 12 – Гистологические особенности побегов *C. submollis*:

А – Эпидермис стебля; Б – Тычинка
 Обозначения: 1 – друзы оксалата кальция; 2 – пыльца

В целом, результаты эксперимента позволяют сделать вывод о схожести микроскопической картины исследованных видов с другими фармакопейными видами, а также типичными представителями *Rosaceae*.

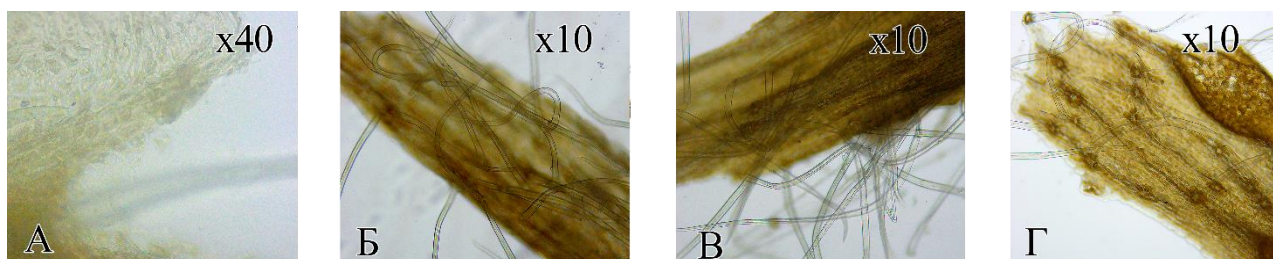


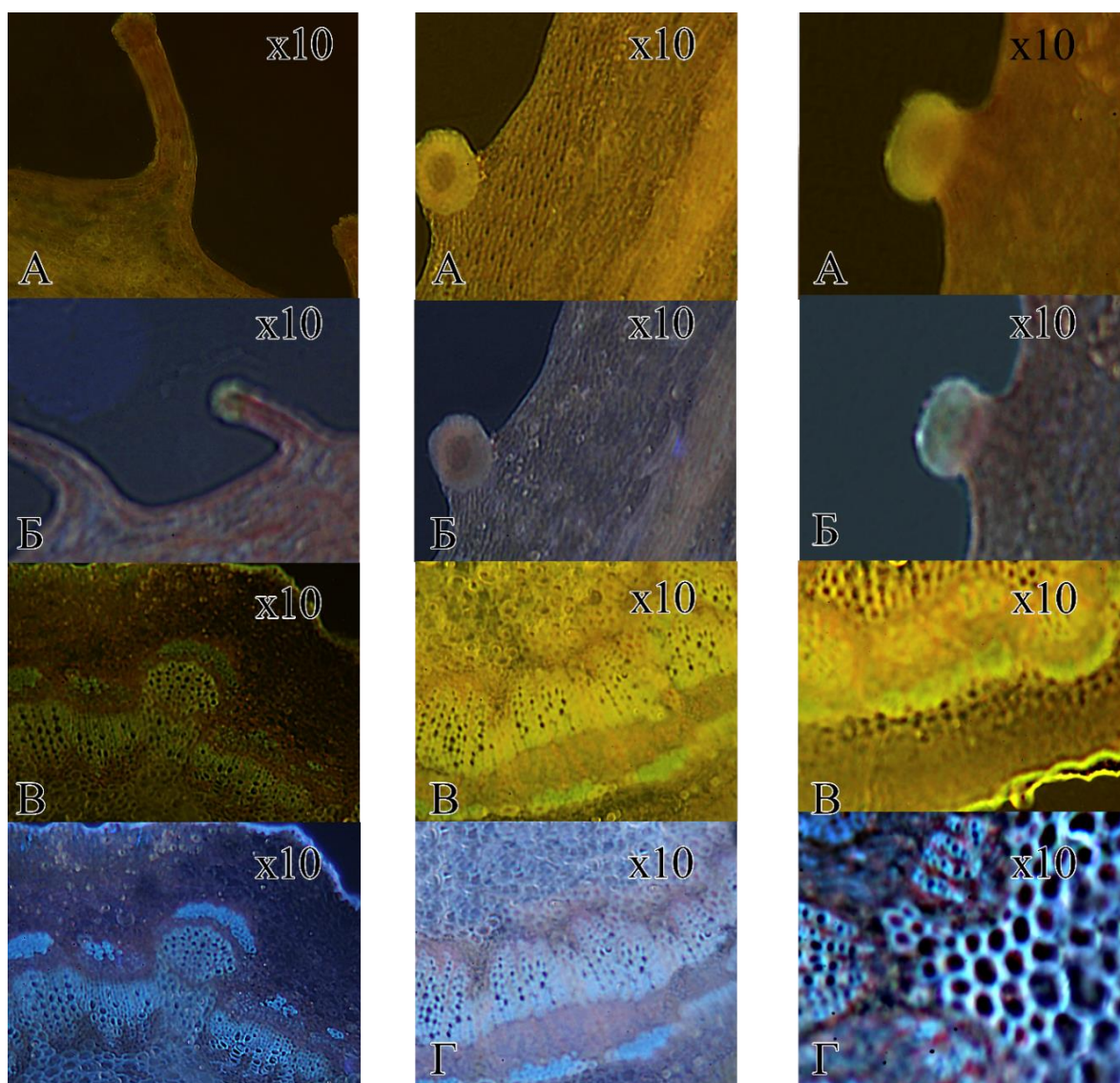
Рисунок 13 – Опушение на различных частях побегов *C. submollis*:

А – Эпидермис верхней части листа; Б – Эпидермис нижней части листа; В – Эпидермис чашечки; Г – Эпидермис стебля

К чертам отличия побегов различных видов боярышника относятся наличие опушения и характер расположения железок. При этом явной гистологической особенностью *C. submollis* будет наибольшее количество одноклеточных трихом и железок с характерным бурым протопластом. Также присутствие железок и волосков характерно для морфологических структур *C. sanguinea*. При этом железки у данных представителей рода наблюдаются на прицветниках, прилистниках, крае листовой пластины. На листе и прилистниках *C. monogyna* железки либо отсутствуют, либо малочисленны. При этом опушение отсутствует на лепестках, тычиночных нитях и пестиках цветков всех трех изучаемых видов боярышника. Железки с бурым протопластом обнаруживаются у чашелистиков *C. submollis*, в отличие от чашелистиков чашелистики *C. sanguinea* и *C. monogyna*, на которых расположены только кроющие трихомы. Следовательно, обильность кроющих трихом и железок на поверхности чашелистиков *C. submollis* – отличительный признак данного вида от других представителей *Crataegus*, позволяющий отличить его от аналогичных видов сырья боярышника [4, 5, 91, 94].

Кроме того, проводилось исследование методом люминесцентной микроскопии с помощью микроскопа «Альтами» «ЛЮМ-2». Железки боярышника имеют желтое свечение при 420 нм (рис. 14 А). Желтовато-зеленоватым цветом светится головка у железок при 360 нм (рис. Б). Элементы стебля, имеющие

лигнификацию имеют желтое свечение при 420 нм и голубое свечение при 360 нм (рис. 14 В, Г).



Побеги *C.sanguinea*

Побеги *C.monogyna*

Побеги *C.submollis*

Рисунок 14 – Сравнительный люминесцентный анализ

гистологических особенностей побегов:

А – Прицветник при $\lambda=420$ нм; Б – Прицветник при $\lambda=360$ нм; В – Центральный цилиндр при $\lambda=420$ нм; Г – Центральный цилиндр $\lambda=360$ нм

Результаты исследования морфолого-анатомических признаков цветущих побегов боярышника составили раздел микроскопических признаков в ОФС на побеги боярышника кроваво-красного и боярышника мягковатого.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3

1. Проведенный эксперимент позволяет выявить отличительные особенности анатомии и гистологии побегов *C. submollis* от других представителей *Crataegus*, а также некоторые схожие свойства микроскопических картин.

2. Схожими при этом можно называть особенности верхних и нижних покровных тканей, эпителиальных клеток лепестков, а также поперченого сечения.

3. Один из самых явных характерных признаков, который позволит отличить *C. submollis* от близких к нему по виду представителей – это наличие большого количества одноклеточных трихом, а также железок с бурыми протопластами.

4. Детализирована петиолярная анатомия черешка листа боярышника мягковатого, позволяющая выявить характерные изменения проводящего пучка по мере продвижения от базальной к апикальной части черешка листа.

5. Люминесцентная микроскопия позволила выявить свечение, характерное для железок и некоторых элементов гистологических структур стебля.

ГЛАВА 4. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Химический состав листьев боярышника мягковатого изучен не в полной мере и представляет большой интерес для науки.

4.1. Выделение индивидуальных соединений

Для проведения описываемого эксперимента в условиях лаборатории изготовили настойку листьев боярышника мягковатого. С целью изготовления 200 г сырья заливали 1000 мл этанола концентрацией 70 %, подвергали дробной перколяции. В три перколятора размещали по $\frac{1}{3}$ от массы сырья. В первый заливали примерно 1,5 объема этанола, настаивали 24 часа. Затем последовательно переливали извлечение и заливали новой порцией этанола, прогоняя необходимое количество спирта. Полученную настойку отфильтровывали через марлю. Далее готовый продукт упаривали до 50 мл при помощи авторотационного испарителя. Полученное извлечение степенно наслаивали на сорбент, в качестве которого был выбран силикагель (марки КСКГ негранулированный фракционированный 0,04 – 0,10 мм L40/100) в количестве, необходимом для полного наслоения испытуемой жидкости. После чего оставляли до полного высыхания силикагеля; временем высыхания считали время полного осветления сорбента, далее взвешивали смесь. Новую порцию силикагеля, равную массе смеси выкладывали в заранее подготовленную делительную воронку на 500 мл с ватным тампоном на днище, заливали 500 мл трихлорметана, промывали сорбент. После промывки колонки, снова заливали сорбент так же трихлорметаном. Далее в колонку равномерно распределяя помещали полученную ранее смесь, смывая ее со стенок воронки трихлорметаном. С целью предупреждения разбрызгивания хлороформа и исследуемой смеси, на поверхность выложили ватный тампон, приставив к нему палочку из стекла. Элюировали неподвижную фазу различными концентрациями трихлорметана и этилгидрата, а также водой. В среднем каждая полученная

фракция составляла до 170 мл в объеме. С помощью круговращательного испарителя объем фракций доводили до 7 мл и помещали в пенициллинки (табл. 7).

В ходе элюирования с целью понимания достаточности разделения веществ определяли интенсивность окраски, оценку успешности деления давали путем нанесения полученных фракций на аналитические пластины и последующим хроматографированием.

Таблица 7 – Схема проведения элюирования веществ в хроматографической колонке

№ фракций	Состав элюента, %		Объем элюент, мл
	Хлороформ	Этанол 96%	
1-2	100	0	500
3-12	97	3	1000
13-20	95	5	1000
21-25	93	7	500
26-32	90	10	1000
33-39	85	15	1000
40-44	80	20	1000
45-48	70	30	1000
49-61	60	40	1500
62-67	50	50	1000
68-73	0	100	1000

4.2. Идентификация выделенных веществ

Самые перспективные из полученных фракций отбирали для дальнейшего анализа:

– Объединенные фракции 49, 50, 51 и 52 были подвергнуты испытаниям после проведения дополнительной микроколоночной хроматографии различными концентрациями воды и этилгидрата; в качестве сорбента был выбран полиамид (марки 9620.2 Carl Roth GmbH & Co. KG Polyamide-CC 6 0.05-0.16mm 815620.1).

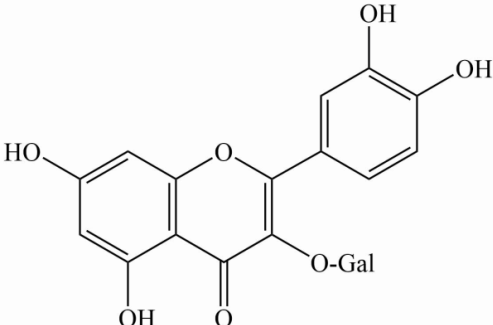
Вещество желтого цвета было получено с применением дальнейшей перекристаллизации пропанолом и водой, этилгидратом и водой.

– Объединенные фракции 53, 54, 55, 56, 57 были подвергнуты испытаниям после проведения дополнительной микроколоночной хроматографии различными концентрациями воды и этилгидрата; в качестве сорбента был выбран полиамид (марки 9620.2 Carl Roth GmbH & Co. KG Polyamide-CC 6 0.05-0.16mm 815620.1). Вещество желтого цвета было получено с применением дальнейшей перекристаллизации пропанолом и водой, этилгидратом и водой.

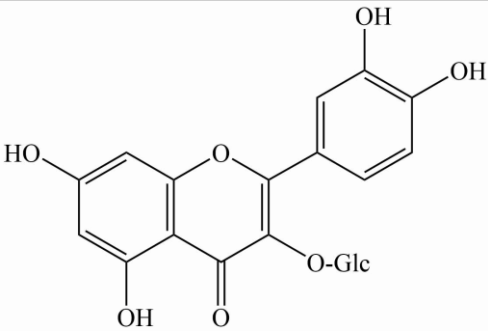
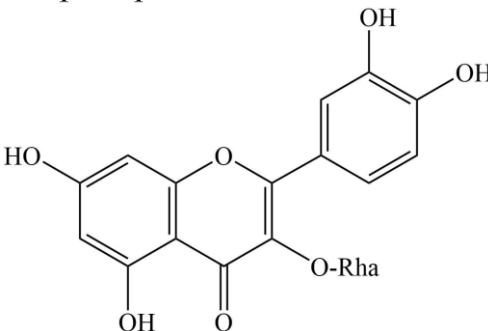
– Объединенные фракции 58, 59, 60, 61 были подвергнуты испытаниям после проведения дополнительной микроколоночной хроматографии различными концентрациями воды и этилгидрата; в качестве сорбента был выбран полиамид (марки 9620.2 Carl Roth GmbH & Co. KG Polyamide-CC 6 0.05-0.16mm 815620.1). Вещество желтого цвета было получено с применением дальнейшего кислотного гидролиза и последующего анализа артефактов, этилгидратом и водой.

В дальнейшем для распознавания структуры химического соединения были использованы ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия. После чего были получены индивидуальные соединения 1-3, представленные в таблице 8, относящиеся по своей природе к флавоноидам. ЯМР- и масс-спектры представлены на рисунках 15-17.

Таблица 8 – Индивидуальные соединения, выделенные из листьев боярышника мягковатого

№ п/п	Название соединения	Характеристика соединения
1.	Гиперозид 	(3-O-β-D-галактопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавона) (1). Светло-желтое вещества состава C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ с т.пл. 229-232 °С (водный ацетон); масс-спектр

		<p>(70 eV, 200 °C, m/z, %): 302 (M⁺ агликона, 100 %), 153 (23), 137 (64), УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 258, 266 нм, 363; + NaOAc 274, 381; + NaOAc + H₃BO₃ 262, 378; + AlCl₃ 275, 414; + AlCl₃ + HCl 271, 403.</p> <p>¹H-ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 12.59 (с, 1H, 5-OH), 10.50 (уш. с, 1H, 7-OH), 9.19 (уш. с, 2H, 3'-OH и 4'-OH), 7.64 (дд, 1H, 2.5 и 9 Гц, H- 6'), 7.48 (д, 1H, 2.5 Гц, H-2'), 6.77 (д, 1H, 9 Гц, H-5'), 6.35 (д, 1H, 2.5 Гц, H-8), 6.15 (д, 1H, 2.5 Гц, H-6), 5.33 (д, 1H, 7.5 Гц, H-1'' галактозы), 3.1-4.4 (м, 6H галактозы).</p> <p>¹³C-ЯМР спектр (100.52 МГц, DMSO-d₆, δ_C, м.д.): 177.97 (C-4), 164.83 (C-7), 161.74 (C-5), 161.74 (C-9), 156.83 (C-2), 149.01 (C-4'), 145.36 (C-3 и C-3'), 122.52 (C-1'), 121.60 (C-2'), 116.44 (C-6'), 115.69 (C-5'), 104.37 (C-10), 102,32 (C-1'' галактозы), 99.23 (C-6), 94.04 (C-8), 76,36 (C-3'' галактозы и C-5'' галактозы), 73.70 (C-2'' галактозы), 69.29 (C-4'' галактозы), 60.65 (C-6'' 3'' галактозы).</p>
2.	Изокверцитрин	<p>(3-O-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавона) (2). Светло-желтое кристаллическое</p>

		<p>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_3BO_3 262, 378 нм; + $AlCl_3$ 274, 415 нм; + $AlCl_3$ + HCl 270, 404 нм.</p> <p>1H-ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.58 (1H, с, 5-OH-группа), 7.54 (д, 2.5 Гц, H-2'), 7.52 (1H, дд, 2,5 и 9 Гц, H-6'), 6.83 (1H, д, 9 Гц, H-5'), 6.36 (1H, д, 2.5 Гц, H-8), 6.16 (1H, д, 2,5 Гц, H-6), 5,31 (д, 7 Гц, H-1¹¹ глюкозы), 2.8-4.4 (м, 6H глюкозы).</p>
3.	<p>Кверцитрин</p> 	<p>(3-O-α-L-рамнопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавона)</p> <p>(3). 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_3BO_3 262, 379 нм; + $AlCl_3$ 274, 414 нм; + $AlCl_3$ + HCl 270, 405 нм.</p> <p>1H-ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.61 (1H, с, 5-OH-группа), 10.78 (3H, с, 7-OH-группа), 9.60(1H с, 4'-OH-группа), 9.15 (1H, с, 3'-OH-группа), 7.25 (1H, д, J = 2.5 Гц, H-2'), 7.14 (1H, дд, J =</p>

= 2.5, 9 Гц, Н-6'), 6.81 (1Н, д, J = 9, Н-5'), 6.36 (1Н, д, 2.5 Гц, Н-8), 6.17 (1Н, д, 2.5 Гц, Н-6), 5.21 (1Н, д, 1.5 Гц, Н-1'' рамнозы), 2.8-5.0 (м, 4Н рамнозы), 0.77 (3Н, д, 6 Гц, СН₃ рамнозы).

¹³С-ЯМР спектр (100.52 МГц, DMSO-d₆, δ_С, м.д.): 177.97 (С-4), 164.83 (С-7), 161.74 (С-5), 161.74 (С-9), 156.83 (С-2), 149.01 (С-4'), 145.36 (С-3 и С-3'), 122.52 (С-1'), 121.60 (С-2'), 116.44 (С-6'), 115.69 (С-5'), 104.37 (С-10), 102,32 (С-1'' галактозы), 99.28 (С-6), 94.06 (С-8), 102.30 (С-10 и С-1'' рамнозы), 98.92 (С-6), 94.20 (С-8), 72.79 (С-3'' рамнозы), 71.72 (С-4'' и С-2'' рамнозы), 68.45 (С-5'' рамнозы), 17.99 (С-6'' рамнозы).

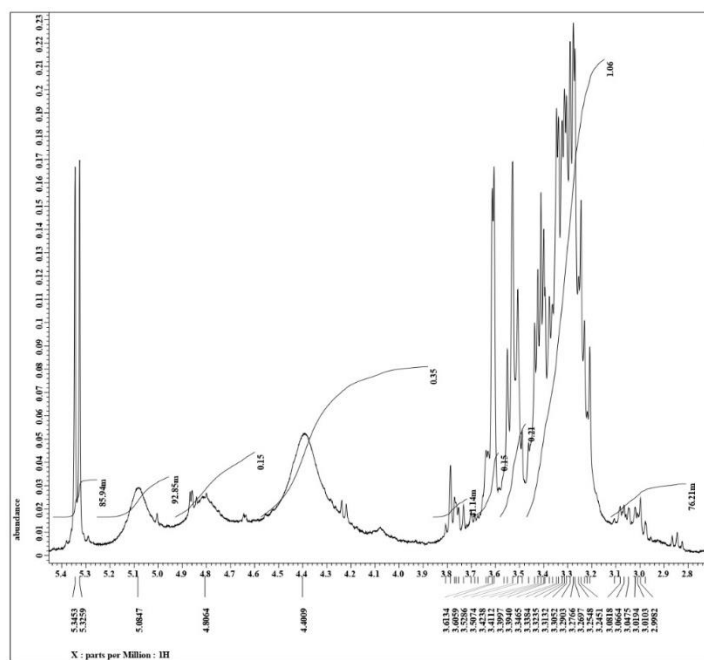
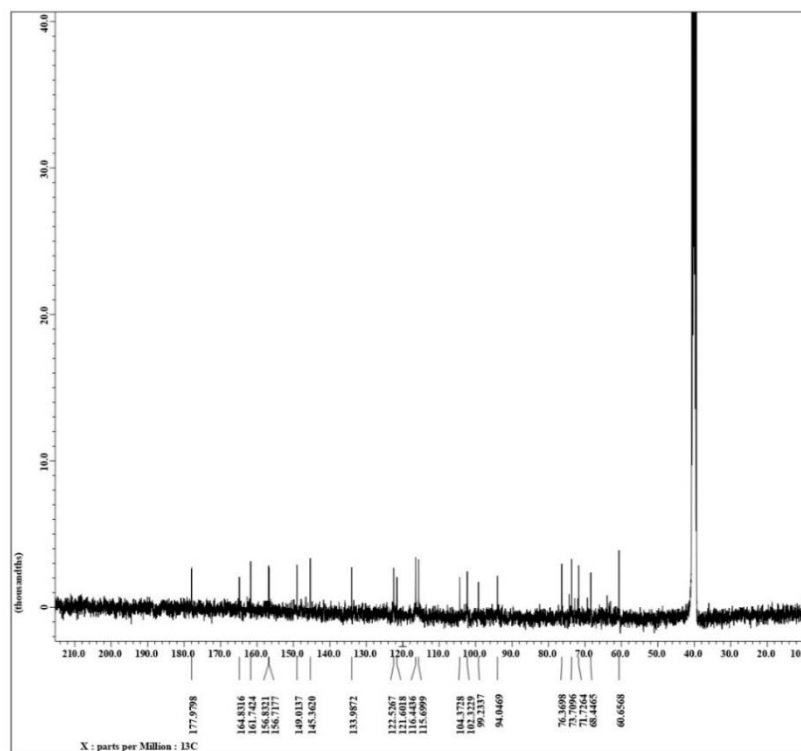


Рисунок 15 – ^1H -ЯМР-спектр гиперозида (соединение 1) в DMSO-d_6 Рисунок 16 – ^{13}C -ЯМР-спектр гиперозида (соединение 1) в DMSO-d_6

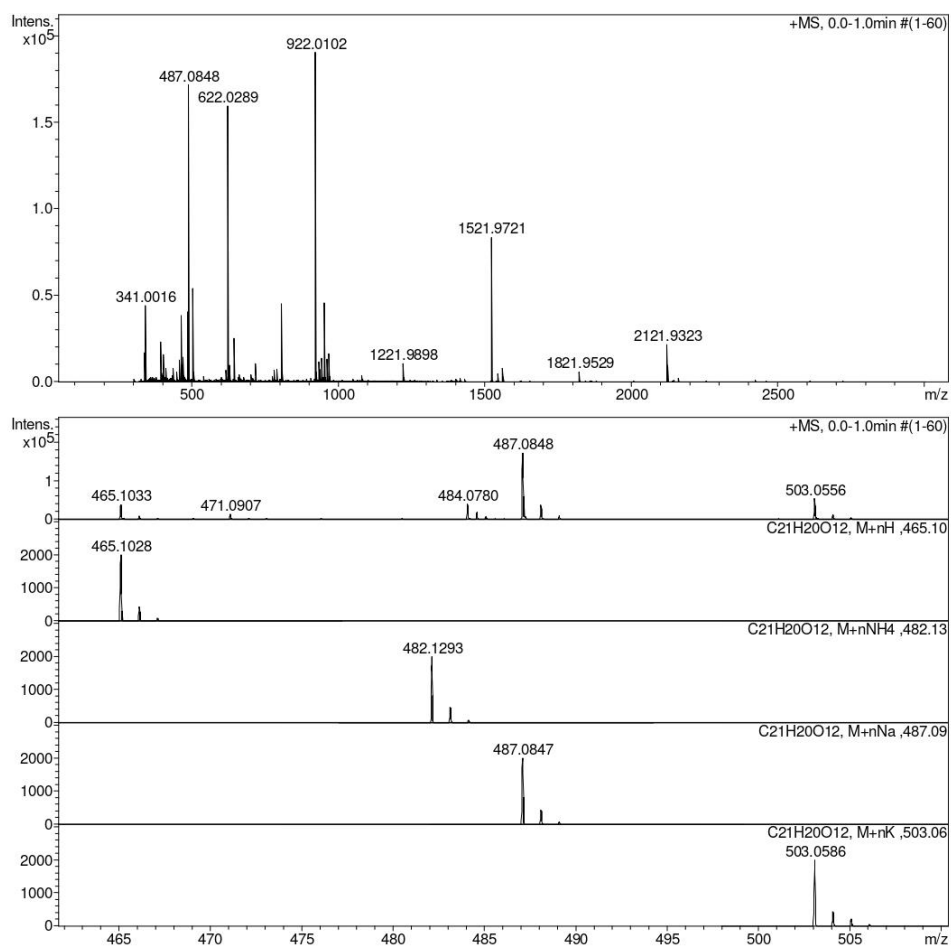


Рисунок 17 – Масс-спектр гиперозида (соединение 1)

В ходе эксперимента нами, таким образом, были получены гиперозид, изокверцитрин и кверцитрин. Следует отметить, что изокверцитрин и кверцитрин впервые в РФ описаны для листьев боярышника мягковатого [55].

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 4

1. Для листьев боярышника мягковатого проведен эксперимент по уточнению химического состава с использованием принципов адсорбционного колоночного хроматографирования.

2. В ходе эксперимента, таким образом, было получено 3 индивидуальных соединения, имеющих флавоноидную природу: гиперозид, изокверцитрин и кверцитрин. Компонентная структура вышеперечисленных веществ была определена посредством ^1H -ЯМР и ^{13}C -ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, спектроскопии в ультрафиолетовой области, а также с применением химических превращений (кислотный и ферментативный гидролиз).

3. Изокверцитрин и кверцитрин впервые выделены из листьев *C. submollis*.

ГЛАВА. 5 ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗА СЫРЬЯ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *CRATAEGUS* L.

Важнейшие биологически активные вещества сырья боярышника представлены флавоноидами [49, 65, 67, 101]. Так, в плодах боярышника преобладают восстановленные формы флавоноидов, в время как в листьях, цветках и побегах доминируют их окисленные формы [49, 65]. Поэтому для побегов боярышника будут эффективны методики качественного анализа с помощью тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии, а также высокоэффективная жидкостная хроматография. В качестве методик количественного анализа может выступать дифференциальная спектрофотометрия с применением раствора алюминия хлорида.

Следует еще раз отметить, что побеги боярышника, заготовку которых осуществляют в период вегетации цветения растения состоят собой верхушки побегов, включая листовые пластины, черешки и их части, молодые стебли, у которых не произошло формирование древесины первичной коры, цветки, иногда бутоны. Ранее нами уже проводились исследования некоторых частей сырья, а именно листьев и цветков, так и исследования побегов. Исследования листьев и побегов растений рода Боярышник отражены в трудах отечественных ученых [55]. Однако насколько побеги боярышника разных видов сходны по химическому составу остается открытым вопросом. Поэтому в данной работе мы уделяем большое место сравнительному анализу как побегов, так и их отдельных частей *S. sanguinea*, *S. monogyna*, *S. submollis*.

5.1. Качественный анализ сырья и препаратов боярышника

Из источников литературы известно, что побеги боярышника содержат фенольные и терпеновые соединения [49, 65, 67, 101]. Все качественные реакции были проведены с раствором А (см. раздел 5.2). Предварительный качественный анализ с проведением качественных реакций на наличие флавоноидов, дубильных

веществ и сапонинов в густых экстрактах побегов боярышника позволил сделать следующие выводы (табл. 9).

Таблица 9 – Результаты качественных реакций на некоторые группы БАС густых экстрактов побегов боярышника

№ п/п	Название качественной реакции	Тип обнаруживаемых веществ	Результат
Густой экстракт побегов боярышника кроваво-красного			
1	Реакция с раствором хлорида железа трехвалентного (или раствором железоммонийных квасцов)	Фенольные соединения	Темный осадок
2	Реакция с раствором натрия гидроксида	Фенольные соединения	Потемнение раствора
3	Цианидиновая реакция (проба Shinoda)	Флавоноиды	Красное окрашивание
4	Реакция с хлоридом алюминия	Флавоноиды	Желто-зеленое окрашивание
5	Реакция Сальковского	Сапонины	Сиреневое окрашивание
Густой экстракт побегов боярышника мягковатого			
6	Реакция с раствором хлорида железа трехвалентного (или раствором железоммонийных квасцов)	Фенольные соединения	Темный осадок
7	Реакция с раствором натрия гидроксида	Фенольные соединения	Потемнение раствора

8	Цианидиновая реакция (проба Shinoda)	Флавоноиды	Красное окрашивание
9	Реакция с хлоридом алюминия	Флавоноиды	Желто-зеленое окрашивание
10	Реакция Сальковского	Сапонины	Лиловое окрашивание

Оценка качества цветков листьев и побегов проводилась с использованием методов разделения веществ, а именно хроматографии в тонком слое сорбента с применением аналитических пластин Sorbfil PTSX-AF-A-UV 10X15 (ТУ 26-11-17-89). В рамках испытаний производили подбор подвижных фаз, в качестве чего применяли различные сочетания этилгидрата, трихлорметана и некоторых других реактивов, например, система бутиловый спирт-этановая кислота-вода (БУВ), бутиловый спирт-этилгидрат-вода. В ходе эксперимента эффективнее всего показала себя подвижная фаза, состоящая из смеси растворителей 26 частей трихлорметана, 16 частей этилгидрата и 3 частей воды. Обнаружение разделенных на пластине соединений осуществлялась при осмотре хроматограмм в ультрафиолетовом освещении ($\lambda=366$, $\lambda=254$ нм). Также для подтверждения подлинности некоторых соединений аналитические пластины обрабатывали раствором хлористого алюминия и ДСК. При проведении анализа применялись растворы веществ-свидетелей. Так были использованы стандартные образцы рутина, гиперозида, 2''-О-рамнозида витексина и хлорогеновой кислоты.

По итогам эксперимента, касающегося соотнесения интерпретированных показателей хроматографии в тонком слое сорбента были сделаны выводы о разнообразии и схожести сырья. В конечном итоге, в цветках обозначенных представителей *Crataegus* обнаружены гиперозид и хлорогеновая кислота, что показано на рисунке 18. Также представляют интерес неидентифицированные вещества, присутствующие на аналитических пластинах у *C. monogyna* и *C. sanguinea* в виде пятен, детектируемых диазобнзидсульфокислотой желтым цветом

и ультрафиолетовым светом $\lambda=254$ с указанными на рисунке значение R_f . У *C. submollis* вызывает вопросы соединение с синей люминесценцией с $\lambda=366$.

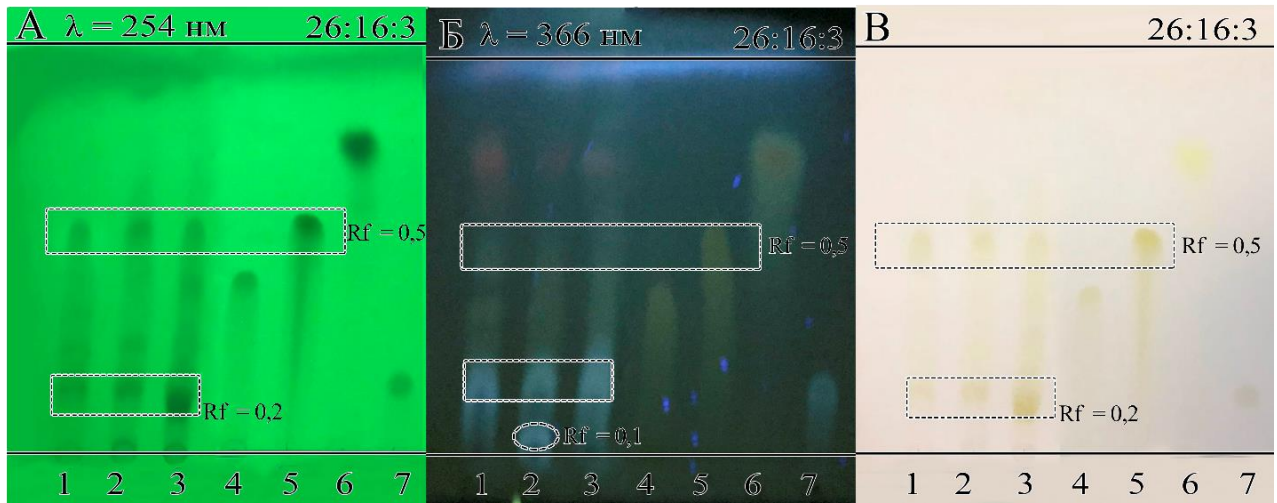
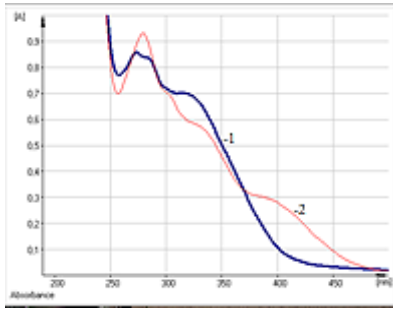
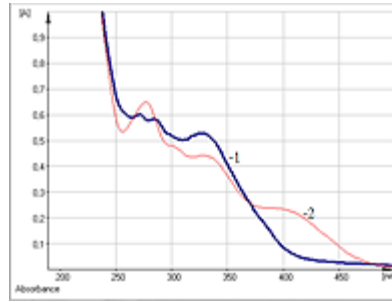
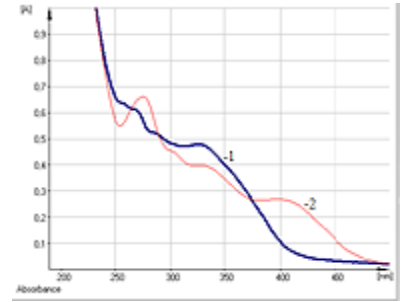


Рисунок 18 – Хроматографический профиль спирто-водных извлечений из цветков боярышника и веществ-свидетелей в подвижной фазе «метилхлорид-этилгидрат-вода» (26:16:3)

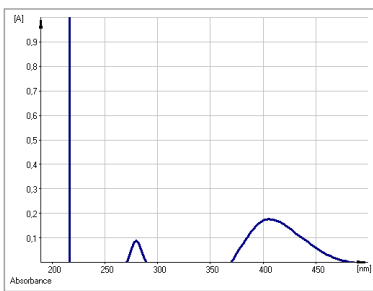
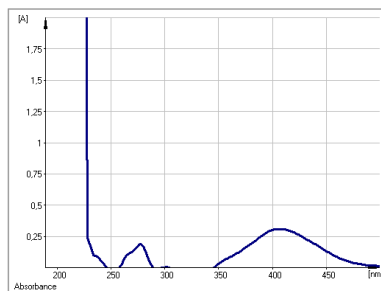
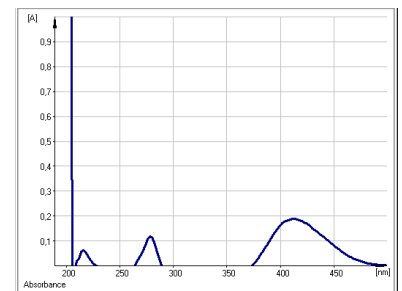
А – Обработка УФ-светом ($\lambda=254$ нм); Б – Обработка УФ-светом ($\lambda=366$ нм); В – Обработка раствором ДСК

Обозначения: 1 – *C. sanguinea*; 2 – *C. submollis*; 3 – *C. monogyna*; 4 – СО рутина; 5 – СО гиперозида; 6 – СО 2''-О-рамнозида витексина; 7 – СО хлорогеновой кислоты

В ходе проведения эксперимента по уточнению спектральных профилей извлечений с применением дифференциальной и прямой спектроскопии в ультрафиолетовой области было зафиксировано, что спектры поглощения извлечений из цветков *Crataegus* схожи. Данный факт демонстрирует также тождественность компонентного состава цветков (рис. 19, 20). Так, для цветков представителей *Crataegus* характерно поглощение падающего ультрафиолетового света, соответствующего длине волны в пределах 406-412 нм. Этот максимум поглощения УФ-излучения типичен для гиперозида, который является доминирующим флавоноидом цветков боярышника. Следовательно, цветки боярышника мягковатого идентичны по составу цветкам дикорастущих для РФ видов боярышника, а также других фармакопейных представителей.

*C. sanguinea**C. monogyna**C. submollis***Рисунок 19 – Кривые поглощения извлечений из цветков боярышника**

Обозначения: 1 – исходный раствор; 2 – в присутствии $AlCl_3$

*C. sanguinea**C. monogyna**C. submollis***Рисунок 20 – Кривые поглощения (дифференциальные) извлечений из цветков боярышника**

В рамках эксперимента также было качественно изучено компонентное содержание веществ в листьях и цветках с листьями (побегами) *Crataegus*. При этом, как и предполагалось побеги сочетают в себе свойства и цветков, и листьев, имея схожие хроматографические профили (рис. 21). Также в листьях и побегах, как и цветках, присутствует фенилпропаноид хлорогеновая кислота и флавоноиды. Однако листья, и как следствие побеги отличаются по качественному составу фенольных соединений в противоположность цветкам. У листьев и побегов *C. submollis* преобладающим веществом является гиперозид. При этом листья и побеги *C. sanguinea* характеризуются доминированием 2''-О-рамнозид витексина. Касаемо листьев и побегов *C. monogyna* все не так однозначно. В ходе исследования нами было обнаружено пятно, которое находится на уровне СО рутин с учетом проведения ТСХ в подвижной фазе БУВ, что не стыковывалось с

тем обстоятельством, что данное вещество при просмотре в свете ультрафиолета ведет себя иначе чем рутин. Также при проведении хроматографирования в тонком слое сорбента с использованием подвижной фазы ХЭТВ это вещество оказывается уже не на уровне СО. Значимым для диагностики подлинности исследуемых видов ЛРС являются: у листьев и побегов *C. submollis* пятно с R_f около 0,1 (детектируемое в ультрафиолетовом свете). В сырье *C. sanguinea* наблюдается присутствие флавоноидов витексина и гиперозида. При этом в побегах состав с преобладанием, склоняющимся в сторону каких-либо компонентов, будет превалировать, напрямую завися от количества листьев и цветков в сырье. Зачастую в сырье превалируют листья.

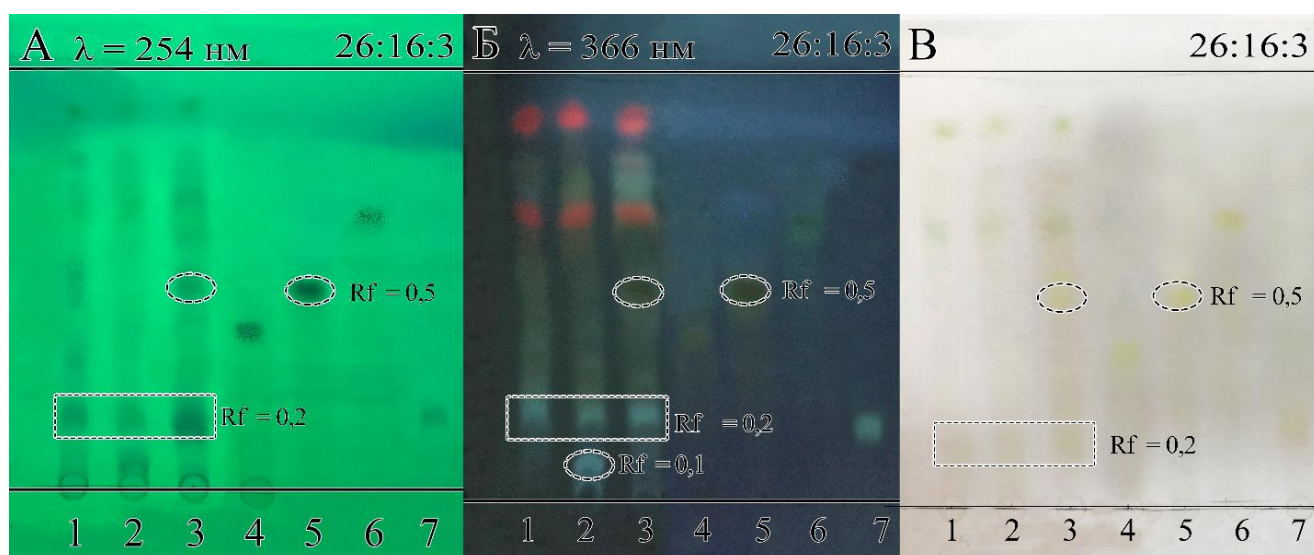


Рисунок 21 – Хроматографический профиль спирто-водных извлечений из листьев боярышника и веществ-свидетелей в подвижной фазе «метилхлорид-этилгидрат-вода» (26:16:3)

А – Обработка УФ-светом ($\lambda=254 \text{ nm}$); Б – Обработка УФ-светом ($\lambda=366 \text{ nm}$); В – Обработка раствором ДСК

Обозначения: 1 – *C. sanguinea*; 2 – *C. submollis*; 3 – *C. тоногуна*; 4 – СО рутина; 5 – СО гиперозида; 6 – СО 2''-О-рамнозида витексина; 7 – СО хлорогеновой кислоты

Спектральные профили извлечений показывают схожие с анализом методом ТСХ результаты (рис. 22, 23, 26, 27): побеги и листья имеют схожий химический состав. Прямые варианты спектральных профилей с присутствием хлористого алюминия говорят о том, что максимальная длина поглощаемой при

спектрофотометрировании волны у листьев и побегов *C. sanguinea* и *C. monogyna* составляет 392 ± 2 нм. Из этого можно сделать вывод о доминировании у листьев и побегов *C. monogyna* не рутина и гиперозида, а совершенно другого флавонона. Спектральные характеристики извлечения листьев и побегов представлены максимумом поглощения в 412 ± 2 нм, подтверждающим наличие гиперозида.

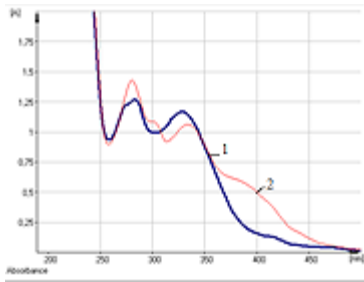
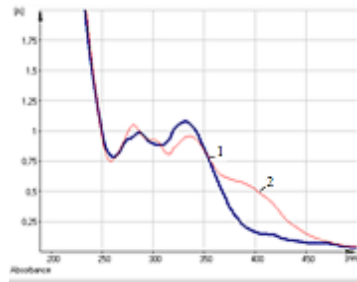
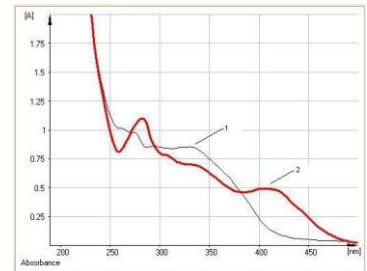
*C. sanguinea**C. monogyna**C. submollis*

Рисунок 22 – Кривые поглощения извлечений из листьев боярышника

Обозначения: 1 – исходный раствор; 2 – в присутствии $AlCl_3$

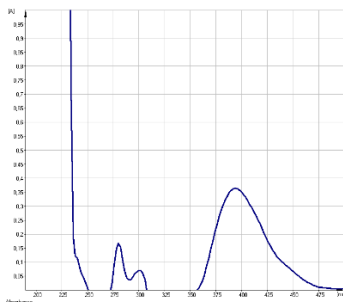
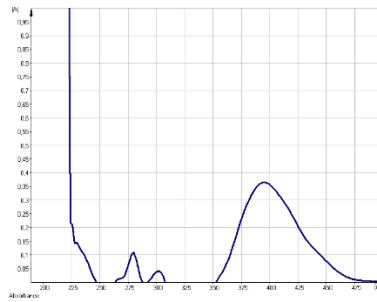
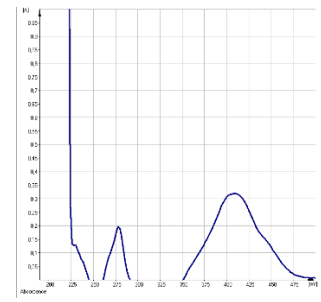
*C. sanguinea**C. monogyna**C. submollis*

Рисунок 23 – Кривые поглощения (дифференциальные) извлечений из листьев боярышника

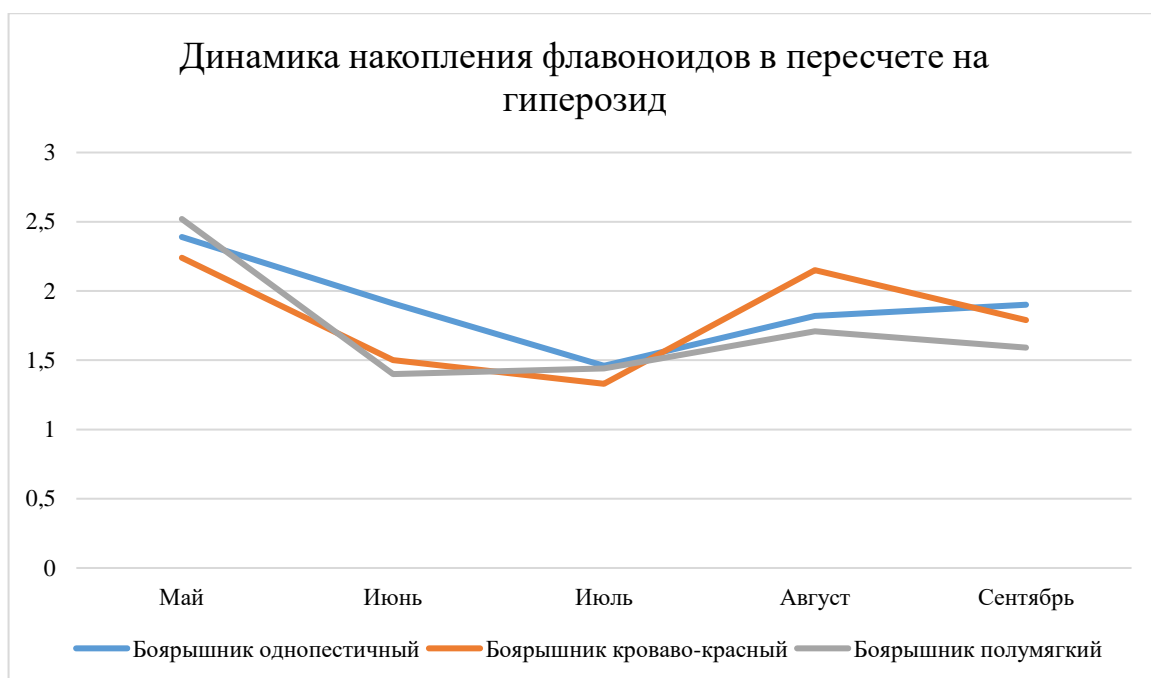


Рисунок 24 – Динамика накопления флавоноидов в пересчете на гиперозид в листьях боярышника

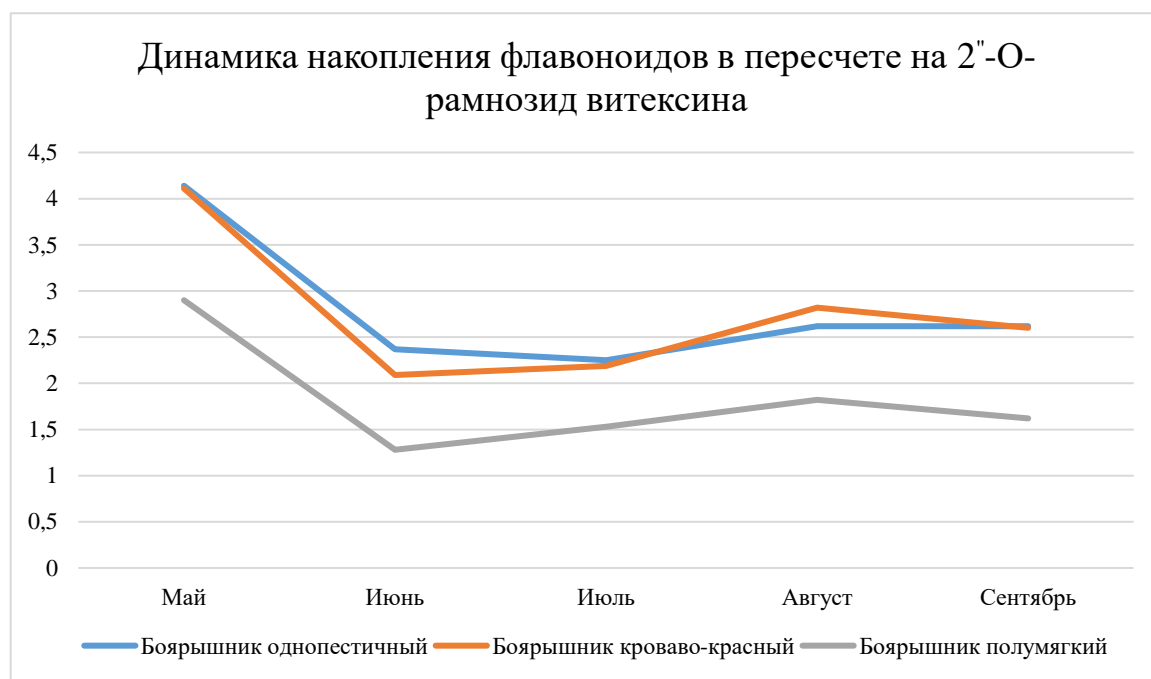


Рисунок 25 – Динамика накопления флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина в листьях боярышника

Кроме того, нами изучалась динамика накопления флавоноидов в листьях *C. sanguinea*, *C. submollis* и *C. monogyna* (рис. 24, 25). Суммарное количество флавоноидов в листьях *Crataegus* всех трех видов показало одинаковую закономерность и при анализе суммы флавоноидов в пересчете на накопления

флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина и в случае гиперозида. В мае содержание суммы флавоноидов в листьях наиболее высокое, затем оно начинает снижаться, несколько увеличиваясь к концу периода вегетации, затем снова идет уменьшение показателей. Данное явление, по-видимому, связано с накоплением в листьях окисленных форм флавоноидов к концу лета. Характерным является то обстоятельство, что в период цветения листья боярышника еще не полностью сформированы, однако содержат наиболее высокий уровень флавоноидов. Следовательно, сырье, представляющее собой листья боярышника, представляется целесообразным заготавливать именно во время цветения растений.

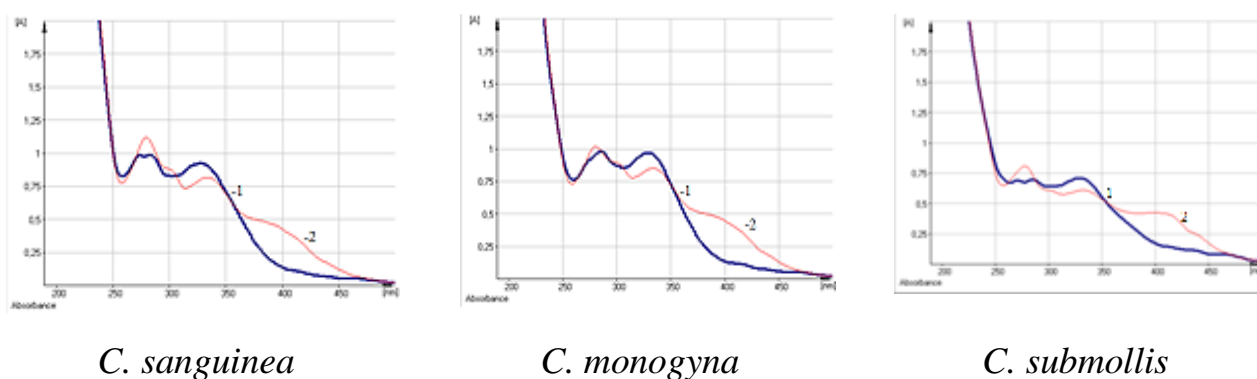


Рисунок 26 – Кривые поглощения извлечений из побегов боярышника

Обозначения: 1 – исходный раствор; 2 – в присутствии $AlCl_3$

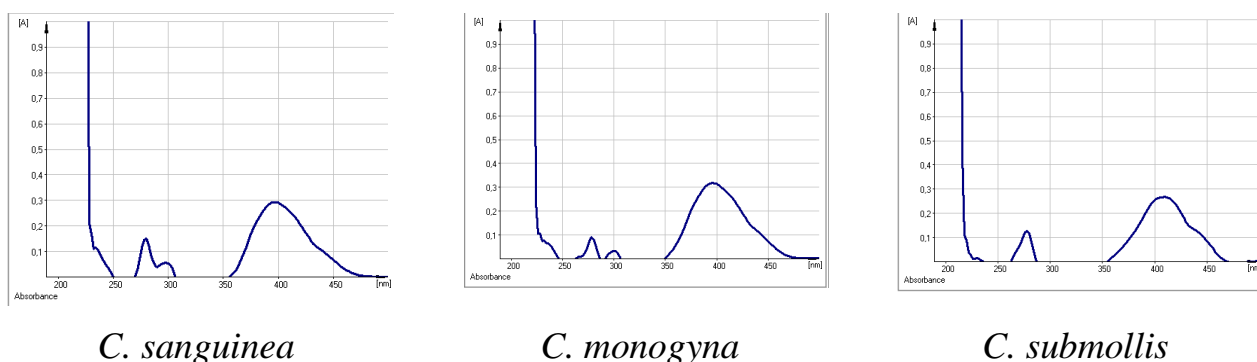


Рисунок 27 – Кривые поглощения (дифференциальный вариант) извлечений из побегов боярышника

Результаты исследования, проведенные с помощью метода тонкослойной хроматографии для густых экстрактов побегов *C. sanguinea*, *C. submollis* и *C.*

monogina также показал существенные отличия в составе густых экстрактов, полученных на основе побегов разных видов боярышника (рис. 28).

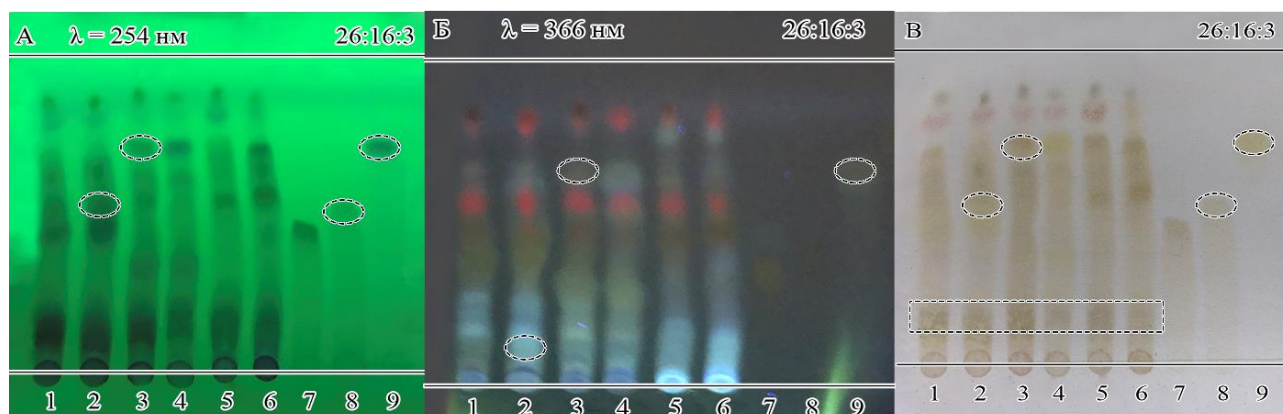


Рисунок 28 – Хроматографический профиль спирто-водных извлечений из побегов, экстрактов боярышника и веществ-свидетелей в подвижной фазе «метилхлорид-этилгидрат-вода» (26:16:3)

А – Обработка УФ-светом ($\lambda=254$ нм); Б – Обработка УФ-светом ($\lambda=366$ нм); В – Обработка раствором ДСК

Обозначения: 1 – *C. monogyna*; 2 – Густой экстракт *C. monogyna*; 3 – *C. sanguinea*; 4 – Густой экстракт *C. sanguinea*; 5 – *C. submollis*; 6 – Густой экстракт *C. submollis*; 7 – СО раствора рутина; 8 – СО раствора гиперозида; 9 – СО раствора 2''-О-рамнозид витексина

Так, у боярышника однопестичного и боярышника кроваво-красного обнаруживаются отличия в химическом составе извлечений из побегов и соответствующих густых экстрактов. Это можно объяснить возможными процессами деструкции нативных фенольных соединений в процессе получения препаратов из побегов боярышника.

Методика качественного анализа густого экстракта побегов боярышника с использованием хроматографии в тонком слое сорбента.

Для нанесения исследуемого раствора на аналитические пластины Sorbfil PTSX-AF-A-UV 10X15 (ТУ 26-11-17-89), пластины термостатировали в температурном режиме 100-105 °С с целью испарения излишков влаги. Камеру для хроматографии заблаговременно насыщали парами подвижной фазы. Линию

старта определяли, отступая 1 см от нижнего края пластины, далее на нее наносили 0,03 мл раствора А (см. Количественное определение) с помощью микропипетки. В качестве вещества-свидетеля использовали соответствующее раствору А количество спирто-водного раствора СО гипрозида. С целью разделения веществ применяли подвижную фазу *трихлорметан–этилгидрат–вода* (с применяемым соотношением частей 26:16:3). Использовали восходящий метод хроматографирования восходящим, линию фронта определяли при прохождении элюента до 1 см от противоположной стороны аналитической пластины. Далее пластину извлекали из хроматографической камеры и подвергали высушиванию с целью испарения элюента. Пластины рассматривали в естественном освещении. Далее обрабатывали 3 % раствором хлористого алюминия. После высушивания рассматривали хроматограмму в ультрафиолетовом свете $\lambda=366$ нм. На пластине просматривались хроматографические зоны соединений, имеющих голубоватую флуоресценцию с показателем R_f 0,5 (гиперозид), а также R_f 0,6 (2''-О-рамнозид витексин). При этом на аналитической пластине разрешается присутствие других хроматографических зон различного рода меньшей насыщенности.

Приготовление раствора стандартного образца гиперозида. Для изготовления раствора, используемого в дальнейшем СО отвечивают на аналитических весах около 0,01 г кверцетин-3-О-галактозида, затем отвешенное количество вещества помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл 70% этилгидрата с использованием нагревания на водяной бане. После растворения кверцетин-3-О-галактозида колбу охлаждают при температуре окружающей среды и доводят 70% этилгидратом до метки.

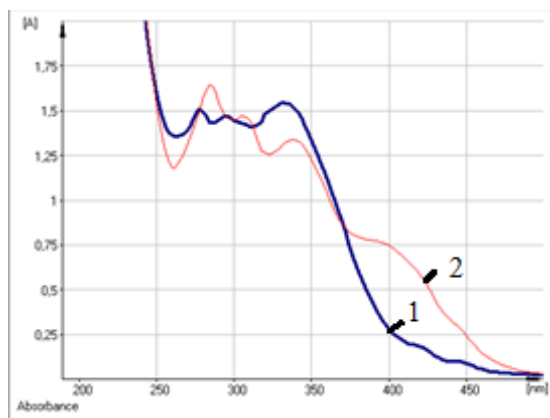


Рисунок 29 – Кривые поглощения растворов густого экстракта побегов *C. toponoyna*

Обозначения: 1 – без раствора алюминия хлорида, 2 – с прибавлением $AlCl_3$

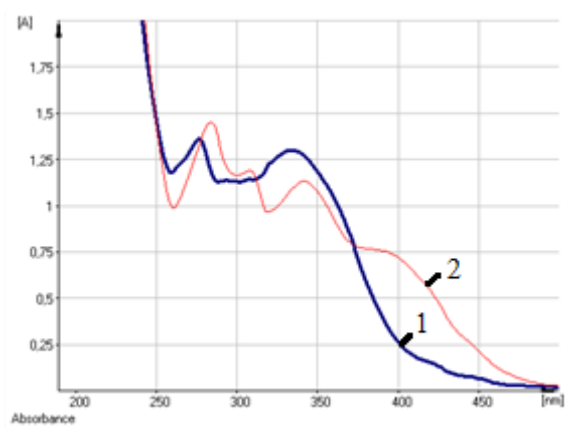


Рисунок 31 – Кривые поглощения растворов густого экстракта побегов *C. sanguinea*

Обозначения: 1 – без раствора алюминия хлорида, 2 – с прибавлением $AlCl_3$

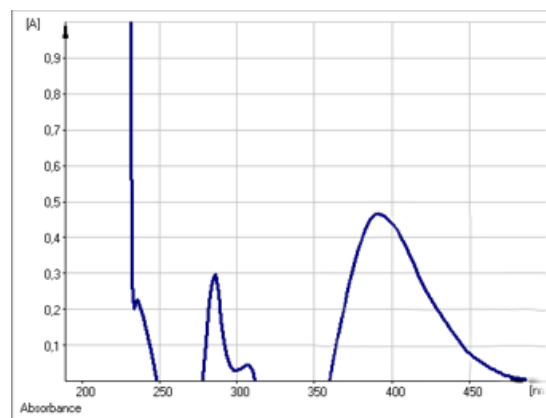
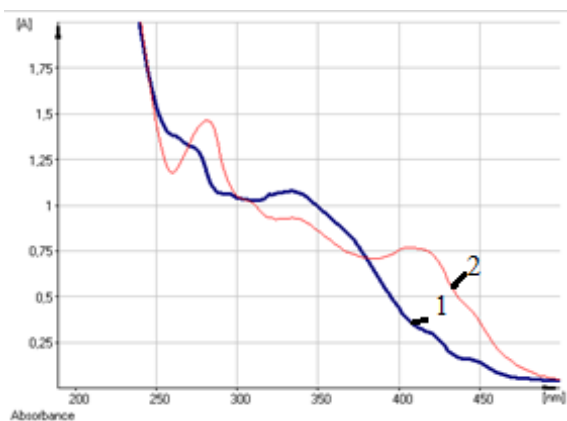


Рисунок 30 – Дифференциальная кривая поглощения раствора густого экстракта побегов *C. toponoyna*

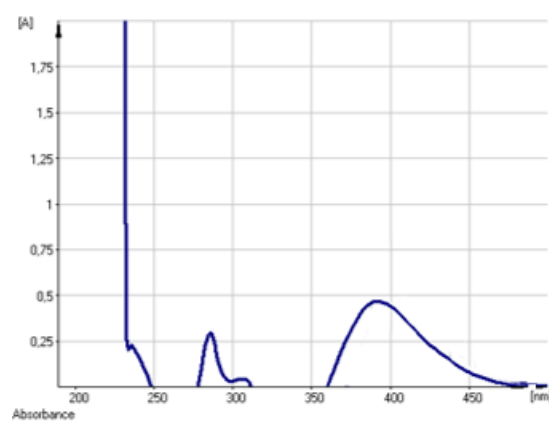
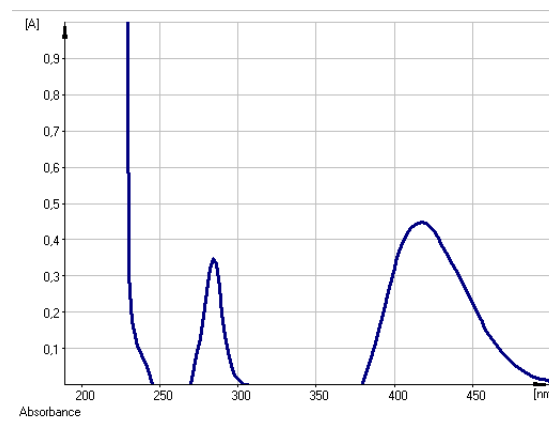


Рисунок 32 – Дифференциальная кривая поглощения раствора густого экстракта побегов *C. sanguinea*



**Рисунок 33 – Кривые поглощения
растворов густого экстракта
побегов *C. submollis***

Обозначения: 1 – без раствора алюминия
хлорида, 2 – с прибавлением $AlCl_3$

**Рисунок 34 – Дифференциальная
кривая поглощения раствора
густого экстракта побегов *C.
submollis***

Также хорошо заметны отличия в кривых поглощения растворов густых экстрактов трех видов боярышника (рис. 29-34). Кроме того, максимумы у дифференциальных кривых поглощения растворов густых экстрактов побегов исследованных видов боярышника также разные. Для густых экстрактов боярышника однопестичного и боярышника кроваво-красного характерный максимум дифференциальных кривых поглощения составляет 392 нм, что соответствует 2''-О-рамнозид витексину. При этом у боярышника мягковатого этот показатель составляет 412 нм, и это типично для гиперозида.

В соответствии с этим в методике количественного анализа расчет содержания суммы флавоноидов для листьев, побегов и всех трех густых экстрактов осуществляли в пересчете на гиперозид и 2''-О-рамнозид витексина. Определение суммарного количества флавоноидов с учетом пересчета только на гиперозид проводили только для цветков боярышника.

Изучение извлечения, полученного из листьев методом ВЭЖХ.
Извлечения получали по методике количественного анализа для листьев *C. sanguinea*, *C. submollis*, *C. monogyna*. Готовый продукт был профильтрован через мембранный фильтр под вакуумом посредством сцепления вакуумной установки с колбой Бунзена и воронкой с соблюдением герметичности установки после охлаждения в течение 30 минут. После первичной фильтрации извлечение подвергли вторичной фильтрации с помощью шприцевого фильтра Minisart SRP25 Filter 17576-K, 0.45 μ m hydrophobic PTFE и помещено в виалу хроматографическую.

Гиперозид, рутин и 2''-О-рамнозид витексин растворялись (способ приготовления растворов идентичен способу при количественном определении) в спирте этиловом и также проходили фильтрацию через шприцевой фильтр.

В дальнейшем извлечения были использованы для проведения жидкостной хроматографии высокой эффективности. Детекция осуществлялась при длинах волн 270, 340, 360 нм. Флавоноиды разделяли с помощью обращенно-фазовой жидкостной хроматографии высокой эффективности. С целью исследования осуществлялся выбор соответствующих подвижных фаз, которыми служила смесь нитрила уксусной кислоты (ацетонитрила) и воды разнообразных концентраций с добавлением 1% раствора ацетата водорода (кислоты уксусной) для устранения нестабильности времени удерживания с применением градиентного элюирования. Градиент составил четыре ступени: подвижная фаза А 20 об. % нитрила уксусной кислоты и 1 % ацетата водорода в воде дистиллированной – 5 мин, подвижная фаза Б 30 об. % нитрила уксусной кислоты и 1 % ацетата водорода в воде дистиллированной – 5 мин, подвижная фаза В 50 об. % нитрила уксусной кислоты и 1 % ацетата водорода в воде дистиллированной – 6 мин, подвижная фаза Г 70 об. % нитрила уксусной кислоты и 1 % ацетата водорода в воде дистиллированной – 4 мин. Время удерживания флавоноидов указано в таблице 10, хроматографические профили перечисленных соединений – на рисунках 38-40.

По окончании эксперимента были получены хроматографические профили извлечений *C. sanguinea*, *C. submollis*, *C. monogyna*, позволяющие оценить качественный состав исследуемых листьев. Листья *C. sanguinea* характеризовались присутствием в составе таких флавоноидов как рутин, гиперозид, 2''-О-рамнозид витексин. Листья *C. submollis* содержали гиперозид (рис. 35, 36). С целью сравнительного эксперимента также был проведен ВЭЖХ-анализ извлечений из листьев *C. monogyna*, который показал отличия флавоноидного состава (рис. 37). Для него полностью доминирующие пики веществ не были идентифицированы.

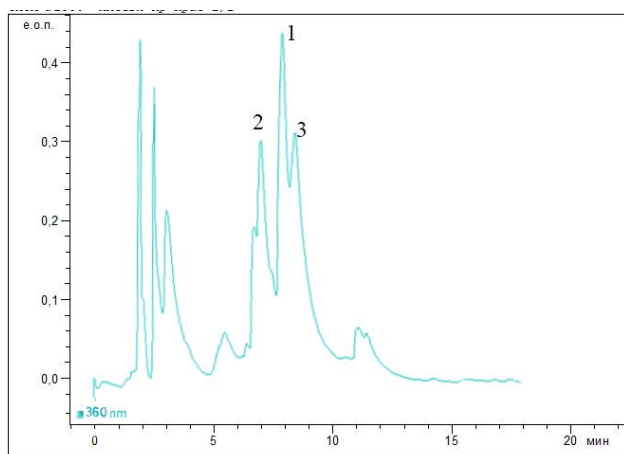


Рисунок 35 – Хроматографический профиль извлечения из листьев *C. sanguinea*

Обозначения: 1 – Гиперозид, 2 – Рутин, 3 – 2''-О-рамнозида витексина

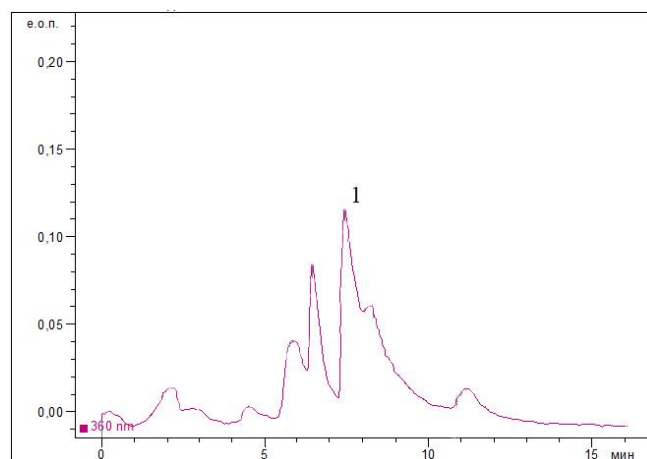


Рисунок 36 – Хроматографический профиль извлечения из листьев *C. submollis*

Обозначения: 1 – Гиперозид

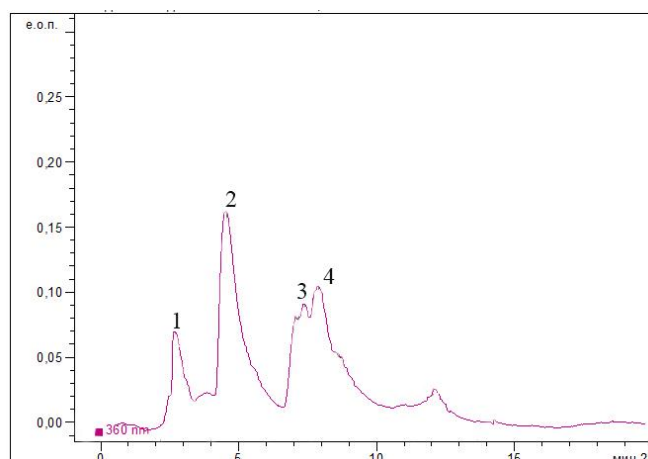


Рисунок 37 – Хроматографический профиль извлечения из листьев *C. monogyna*

Обозначения: 1, 2, 4 – Неидентифицированное вещество, 2 – Неидентифицированное вещество, 3 – Гиперозид

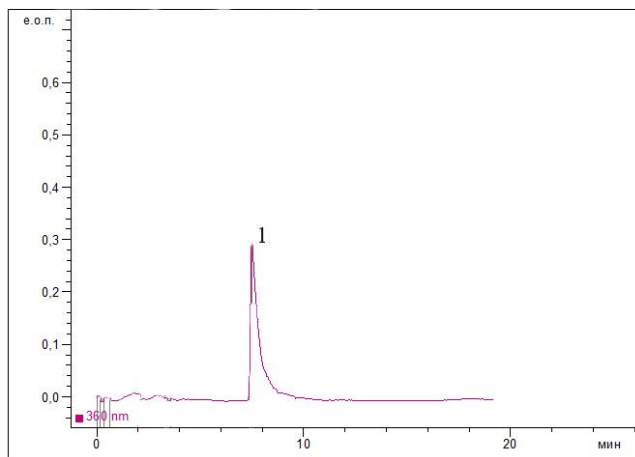


Рисунок 38 – Хроматографический профиль рутина

Обозначения: 1 – Рутин

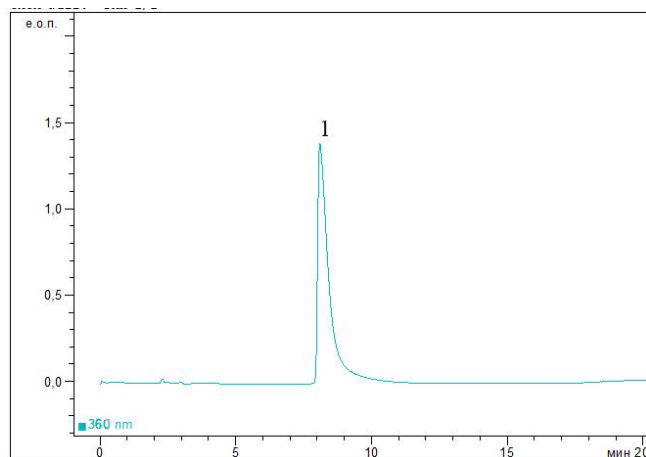


Рисунок 39 – Хроматографический профиль 2''-О-рамнозида витексина

Обозначения: 1 – 2''-О-рамнозида витексин

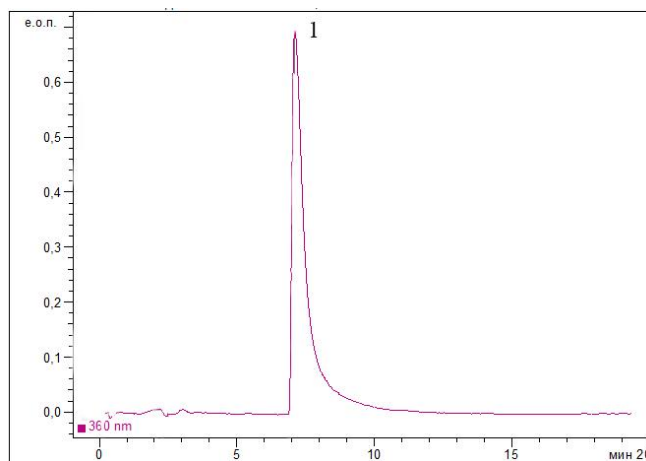


Рисунок 40 – Хроматографический профиль гиперозида

Обозначения: 1 – Гиперозид

Таблица 10 – Время удерживания флавоноидов

Показатель	2''-О-рамнозид витексин	Гиперозид	Рутин
Время удерживания индивидуального соединения	8,32	7,71	7,38
Время удерживания соединения в извлечении <i>C. sanguinea</i>	8,95	8,14	7,55
Время удерживания соединения в извлечении <i>C. submollis</i>	-	8,42	-
Время удерживания соединения в извлечении <i>C. monogyna</i>	-	7,95	-

Наличие исследуемых веществ подтверждалось при повторном хроматографировании извлечений с добавлением стандартных образцов. При этом пики соответствующих веществ увеличивались, что подтверждает присутствие таковых в исследуемых образцах.

Проведенный нами анализ еще раз позволяет показать, что листья различных видов боярышника существенно отличаются по химическому составу. Это же относится и к цветущим побегам, так как листья составляют значительную часть побегов. Поэтому мы считаем не в полной мере целесообразным количественное определение суммы флавоноидов в побегах боярышника разных видов одной методикой, предложенной московскими авторами [89]. Также не можем согласиться с выбором ученых рутин, кверцетин и витексин в качестве стандартных образцов теми же авторами [89]. На наш взгляд, данные вещества в цветущих побегах не присутствуют в значительном количестве. Таким образом, необходимо проведение углубленных экспериментов, касающихся исследования компонентного химического состава листьев *Crataegus* разных видов. Так как особенности химического состава листьев не позволяют применять одинаковые методики качественного, а в дальнейшем и количественного анализов к листьям, а также побегам, предлагаемыми некоторыми авторами [30, 115].

5.2. Количественный анализ сырья и препаратов боярышника

Содержание суммы флавоноидов во всех видах сырья боярышника (листья, цветки и побеги) и густых экстрактов на основе побегов оценивали по методикам дифференциальной спектрофотометрии, разработанным нами ранее и приведенных в Гл. 2 [10, 13, 25, 55, 120]. Определение оптической плотности проводилось при 412 нм (для определения суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид) и 392 нм (для определения суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозида витексин). Следует учесть, что главными частями сырья, представляющего собой побеги, являются листья и цветки (табл. 11). Неодревесневевшие стебли с цветоножками составляют долю менее 15% от сырья

любого из изученных представителя *Crataegus* и суммарное количество флавоноидов в них в случае боярышника мягковатого составляет менее 0,5% в пересчете на гиперозид.

Таблица 11 – Детализированный анализ побегов *C. submollis*

№ п/п	Вид сырья	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, %
1	Цветки	4,08±0,23
2	Бутоны	3,51±0,20
3	Цветоножки	0,53±0,03
4	Лепестки	4,53±0,23
5	Цветоложе и чашечка	0,98±0,05
6	Листья	2,25±0,11
7	Стебли	0,30±0,02

Таблица 12 – Содержание суммы флавоноидов в цветках боярышника

№ п/п	Образец	Содержание суммы флавоноидов в цветках в пересчете на гиперозид, %
1.	Боярышник кроваво-красный	2,36±0,12
2.	Боярышник однопестичный	2,43±0,12
3.	Боярышник мягковатый	2,80±0,09

Так, по итогам эксперимента совершенно понятно, цветки *C. submollis* превосходят цветки других исследуемых представителей *Crataegus* по содержанию действующих флавоноидов (табл. 12).

Таблица 13 – Содержание суммы флавоноидов в листьях боярышника

№ п/п	Образец	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозида витексин, %	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, %
1.	Боярышник кроваво-красный	4,11±0,21	2,24±0,11
2.	Боярышник однопестичный	4,14±0,21	2,39±0,12

3.	Боярышник мягковатый	2,90±0,05	2,53±0,13
----	-------------------------	-----------	-----------

Таблица 14 – Содержание суммы флавоноидов в побегах боярышника

№ п/п	Образец	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозида витексин, %	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, %
1	Боярышник крово-красный	3,19±0,16	2,02±0,10
2	Боярышник однопестичный	3,58±0,18	2,22±0,11
3	Боярышник мягковатый	2,37±0,12	2,15±0,11

Суммарное количество флавоноидов в сырье, представляющем собой листья, а также побеги *C. sanguinea*, *C. monogyna*, *C. submollis* предоставлено в таблицах 13, 14. Необходимо отметить, что суммарное определение флавоноидов в листьях и побегах *C. sanguinea* наиболее разумно рассчитывать при проведении дифференциальной спектроскопии в ультрафиолетовом свете $\lambda=392$ нм с учетом пересчета на 2''-О-рамнозида витексин. Суммарное определение флавоноидов с тех же видах сырья *C. submollis* с использованием дифференциальной спектроскопии в ультрафиолетовом свете $\lambda=412$ нм с пересчетом на гиперозид, опираясь на данные, полученные из эксперимента по исследованию извлечений хроматографией в тонком слое сорбента. При этом содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозида витексин в побегах и листьях боярышника мягковатого оказывается выше, чем в пересчете на гиперозид.

Детальное изучение образцов сырья и его частей проводилось нами с целью создания методик количественного анализа густых экстрактов на основе побегов боярышника. Как уже отмечалось, цветки всех видов боярышника отличаются содержанием флавоноида гиперозида. В то время как в листьях доминирующим оказываются разные флавоноиды. Побеги, состоящие из листьев и цветков, также

существенно различаются химическим составом. Поэтому, на наш взгляд, в отношении сырья «побеги» не может быть единого подхода к количественному анализу. По результатам исследований были выбраны методики количественного анализа для густых экстрактов побегов *C. sanguinea* и *C. submollis*:

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 объемом 25 мл и приливают 15 мл 70% этилгидрата. Колбу помещают на кипящую водяную баню и нагревают, доводя до гомогенизации раствора. После чего колбу подвергают охлаждению, доводят до метки 70% этилгидратом и перемешивают (раствор А).

Изготовление исследуемого раствора: отмеряют 5 мл раствора густого экстракта, помещают в мерную колбу объемом 25 мл, приливают 1 мл раствора хлористого алюминия спиртового, доводят 70% этилгидратом 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.

Вычисление суммарного количества флавоноидов в пересчете на гиперозид посредством определения оптической плотности с использованием $\lambda=412$ нм непосредственно спустя 40 мин после приготовления всех растворов. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид в процентах (X) вычисляют по формуле:

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

где:

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

330 – удельный показатель поглощения гиперозида;

m – масса густого экстракта, в граммах.

С целью вычисления суммарного количества флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина осуществляют определение плотности поглощения света

образцом, используя $\lambda=392$ нм. Анализ начинают проводить спустя 40 минут по времени изготовления растворов. Суммарное количество флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина в процентах (X) рассчитывают по формуле:

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

где:

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

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

m – масса густого экстракта, в граммах.

Значение при этом флавоноидов в густом экстракте побегов *C. sanguinea* в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина находится в границах от 4,09 до 4,23 %.

Валидационные показатели отработанных методологий оценки численного содержания биологически активных соединений побегов боярышника исследовались по следующим критериям: специфичность (способность определять искомое вещество), линейность (зависимость оптической плотности от количества определяемого вещества в исследуемом растворе), правильность (степень близости эксперимента к истинному значению, а именно значение систематической погрешности) и прецизионность (степень сближения нескольких независимых измерений по результатам) [17].

Специфичность в отношении методологии суммарного определения флавоноидов в густом экстракте побегов *C. submollis* в пересчете на гиперозид калькулировалась по сходству максимумов поглощения смеси флавоноидов густого экстракта из побегов *C. submollis* и гиперозида (кверцетин-3-О-галактозида).

Прямая зависимость пропорциональности меры поглощения света испытуемых образцов от количества кверцетин-3-О-галактозида проверялась установлением оптической плотности растворов кверцетин-3-О-галактозида концентрацией, находящейся в пределах от 0,00033 до 0,00293 мг/мл. Мера взаимосвязи изменяемых явлений составила 0,99997.

Для оценки степени близости результатов проведенного эксперимента к значению истины использовали метод добавок раствора кверцетин-3-О-галактозида в концентрации, равной 25 %, 50 %, 75 % к испытываемому образцу.

Также определялась степень близости независимых результатов эксперимента в определенных условиях (сходимость и внутрिलाбораторная прецизионность).

Метрологические показатели методики, рассчитанные для густого экстракта побегов *C. submollis* с учетом определения суммарного количества флавоноидов в пересчете на гиперозид представлены в таблицах 15, 16.

Таблица 15 – Оценка метрологических параметров

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

Таблица 16 – Показатели прецизионности

Показатели валидационной оценки	f	\bar{X}	S	S ²	P (%)	T (P, t)	ΔX , %	E, %
Аналитик 1	5	2,62	0,0300	0,0009	95	2,15	$\pm 0,07$	$\pm 2,64$
Аналитик 2	5	2,66	0,0300	0,0009	95	2,15	$\pm 0,11$	$\pm 4,09$

Критерии метрологии методики для густого экстракта побегов *C. sanguinea* с учетом определения суммарного количества флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексин представлены в таблицах 17, 18.

Таблица 17 – Оценка метрологических параметров

f	\bar{X}	S	S ²	P (%)	T (P, t)	ΔX , %	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 находили по соответствию максимумов

поглощения смеси флавоноидов густого экстракта из побегов *C.sanguinea* и 2''-О-рамнозиду витексина.

Прямая зависимость пропорциональности меры поглощения света испытуемых образцов от количества 2''-О-рамнозид витексина проверялась установлением оптической плотности растворов 2''-О-рамнозид витексина концентрацией, находящейся в пределах от 0,00042 до 0,00374 мг/мл. Мера взаимосвязи изменяемых явлений, выраженная коэффициентом корреляции составила 0,99997.

Для оценки степени близости результатов проведенного эксперимента к значению истины использовали метод добавок раствора 2''-О-рамнозид витексина в концентрации, равной 25 %, 50 %, 75 % к испытуемому образцу.

Также определялась степень близости независимых результатов эксперимента в определенных условиях.

Таблица 18 – Показатели прецизионности

Показатели валидационной оценки	f	\bar{X}	S	S ²	P (%)	T (P, t)	ΔX , %	E, %
Аналитик 1	5	4,15	0,0500	0,0025	95	2,15	$\pm 0,13$	$\pm 3,05$
Аналитик 2	5	4,05	0,0255	0,0007	95	2,15	$\pm 0,03$	$\pm 1,75$

Таблица 19 – Результаты анализа густых экстрактов из цветущих побегов боярышника

№ п/п	Образец	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина, %	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, %
1.	Боярышник кроваво-красный	4,16 \pm 0,21	3,44 \pm 0,17
2.	Боярышник однопестичный	4,97 \pm 0,25	4,01 \pm 0,20
3.	Боярышник мягковатый	1,60 \pm 0,05	2,67 \pm 0,13

Количественный анализ густых экстрактов побегов боярышника, проведенный методом дифференциальной спектрофотометрии, позволил выявить отличия в содержании суммы флавоноидов трех видов боярышника (табл. 19).

Наибольшие показатели обнаружены в густом экстракте побегов *C. monogyna*, а наименьшие – для густого экстракта *C. submollis*. Суммарное количество флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина выше содержания суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид в густых экстрактах побегов *C. monogyna* и *C. sanguinea*. Обратную закономерность можно заметить в густом экстракте побегов *C. submollis*. При этом для всех исследованных образцов отмечен достаточно высокий уровень суммы флавоноидов. Следует также отметить, что, не имея достоверных данных о доминирующем флавоноиде в побегах *C. monogyna*, мы также приводим данные о сумме флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина и гиперозид, аналогично двум другим густым экстрактам с целью сравнительного исследования. Однако при этом, результаты определения количества флавоноидов в отношении *C. monogyna* нельзя назвать объективными.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 5

1. Флавоноидный состав побегов и листьев одного вида боярышника достаточно близок и представлен гликозидами флавонолов.

2. С целью проведения качественного анализа побегов боярышника кроваво-красного, боярышника мягковатого, боярышника однопестичного и густых экстрактов на их основе следует использовать тонкослойную хроматографию и в сочетании со спектрофотометрией для обнаружения окисленных форм флавоноидов с использованием растворов СО 2''-О-рамнозид витексина и гиперозида.

3. Проведение качественного анализа сырья боярышника методами ТСХ и ВЭЖХ показало отличие химического состава листьев и цветков боярышника. Побеги боярышника при этом сочетают в себе химические признаки цветков и листьев. Так, в листьях и побегах боярышника кроваво-красного присутствуют рутин, гиперозид и 2''-О-рамнозида витексин, в листьях и побегах боярышника мягковатого доминирует гиперозид, однако в листьях и побегах боярышника однопестичного гиперозид присутствует в незначительном количестве.

4. Для целей количественного анализа суммы флавоноидов в побегах, а также и в густых экстрактах *C. sanguinea*, *C. monogyna* и *C. submollis* разумно применять спектроскопию дифференциальную в ультрафиолетовой области. При этом в отношении побегов *C. submollis*, а также густого экстракта на его основе в пересчете на гиперозид ($\lambda=412$ нм). Для анализа суммарного количества флавоноидов в отношении побегов *C. sanguinea* и густого экстракта на его основе в пересчете на 2''-О-рамнозида витексин ($\lambda=392$ нм).

5. Побеги боярышника кроваво-красного, боярышника мягковатого, боярышника однопестичного являются перспективными видами лекарственного растительного сырья с целью дальнейшего получения новых растительных препаратов на их основе.

ГЛАВА 6. ОБОСНОВАНИЕ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ СОЗДАНИЯ И ИЗУЧЕНИЕ ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПОБЕГОВ БОЯРЫШНИКА

Ранее нами были получены жидкие экстракты побегов боярышника следующих видов: *C.sanguinea*, *C.submollis* [56, 72, 73]. Данные препараты были изучены на наличие фармакологической активности [53, 54, 72, 73, 124, 125]. Было показано наличие антидепрессантной активности для обоих жидких экстрактов в дозе 100 мг/кг [53, 72, 73, 124, 125]. Жидкий экстракт, как известно, может быть самостоятельным лекарственным средством. Однако с целью терапии и профилактики болезней сердца и сосудов лекарственные средства, содержащие этиловый спирт не могут быть назначены некоторым категориям пациентов. Поэтому целесообразным является разработка твердых лекарственных средств на основе побегов боярышника. Также твердые лекарственные формы удобны в применении и не содержат этиловый спирт. Жидкий экстракт можно вводить в сыпучие массы для прессования, проводя влажное гранулирование [25]. Однако количество жидкого экстракта, необходимого для лечебных целей, на наш взгляд достаточно большое и не позволит получить таблетку. Это возможно только для создания лекарственных средств с целью профилактики заболеваний. Поэтому нами были получены густые экстракты, содержащие более высокий уровень действующих веществ и позволяющие вводить препарат в лекарственную форму в гораздо меньших объемах.

В рамках безотходного производства, а также с целью возможного получения твердых лекформ, изготовленных сырья боярышника нами были разработаны подходы к стандартизации и изучена возможность получения массы для прессования на основе 3 частей высушенного пектина, получаемого в процессе переработки свежих плодов *C.submollis*, 2 частей лактозы и 1 части густого экстракта побегов соответствующих видов боярышника.

6.1. Получение густых экстрактов побегов боярышника

Из побегов *C.sanguinea*, *C.submollis*, *C.monogyna* с использованием метода бисмацерации в соотношении 1:1 с последующим упариванием на ротационном испарителе под вакуумом нами были получены густые экстракты. С целью определения целесообразности изготовления подобных ЛП производилась оценка фармакологических свойств полученных густых экстрактов. В дальнейшем по окончании фармакологического эксперимента густые экстракты подвергали смешиванию с лактозой и пектином с целью получения сыпучих масс, пригодных для дальнейшего прессования.

Полученные экстракты были оценены с использованием дифференциальной спектроскопии в ультрафиолетовой области. После измерения меры поглощения ультрафиолета было исчислено суммарное содержание флавоноидов в исследуемых образцах густых экстрактов. Полученные в ходе эксперимента количественные показатели описаны в таблице 19. Во всех трех экстрактах нами были определены суммарное количество флавоноидов с учетом пересчета на гиперозид и на 2''-О-рамнозид витексина.

6.2. Исследование выделительной функции почек под действием густых экстрактов побегов боярышника

Далее с целью определения наличия фармакологической активности изготовленные в ходе эксперимента густые экстракты *C.sanguinea*, *C.monogyna* и *C.submollis* проводился эксперимент по изучению диуретического действия потенциальных лекарственных средств. В рамках доклинического эксперимента на лабораторных животных изучали диуретические свойства густых экстрактов *C.sanguinea*, *C.monogyna* и *C.submollis*. Густые экстракты разводились в объеме воды, равному 3 % от массы лабораторной крысы с учетом дозировки 10 мг/кг массы тела животного. Данные, полученные в результате эксперимента представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Изменение экскреторной функции почек при введении исследуемых образцов

Время, ч	Показатели	Контроль	Густой экстракт побегов <i>C.sanguinea</i> , 10 мг/кг	Густой экстракт побегов <i>C.monogyna</i> , 10 мг/кг	Густой экстракт побегов <i>C.submollis</i> , 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) в значении р приведены:

* – $p < 0,05$ – уровень значимости отличий показателей опытной группы лабораторных животных от контрольной;

** – $p < 0,01$ – уровень значимости отличий показателей опытной группы лабораторных животных от контрольной.

При проведении эксперимента наблюдалось изменение активности экскреторной функции почек, что свидетельствовало о влиянии густых экстрактов исследуемых представителей рода *Crataegus* на выделительную функцию.

Густой экстракт побегов *C.sanguinea* способствовал повышению объема мочи за 4 часа эксперимента на 18%, за 24 часа на 10%, что не является в данном случае свидетельством достоверного увеличения диуреза. Установлено, что при этом в результате 4-х часового эксперимента подлежала увеличению экскреция креатинина на 67 %, за 24 часа – на 35 %. Данные результаты являются достоверными. Вместе с тем повышение экскреции креатинина свидетельствует об увеличении клубочковой фильтрации почек. Согласно данным предыдущих экспериментов, касающихся изучения жидкого экстракта листьев *C.sanguinea*, положительное влияние повышения суточного и четырехчасового объема мочи сопряжено с повышенным массосодержанием в данном виде сырья 2''-О-рамнозид витексина [52]. Увеличенный креатининуризм в данном случае тесным образом связан с доминирующим флавоноидом цветков *C.sanguinea* – гиперозидом, за счет чего и происходит усиление клубочковой фильтрации почек.

В отношении густого экстракта *C.submollis* после внутривидевого 10 мг/кг в разведении 3 % объема водной нагрузки введения данного образца замечено достоверное увеличение экскреции креатинина на 42 % за 4 часа исследования. Однако, касаясь усиления диуреза за 4 и 24 часа исследования и креатининуриза за 24 часа, результаты, на наш взгляд, недостаточно достоверны. Повышение креатининуретического действия в данном случае неотъемлемо связано с присутствием гиперозида в листьях и цветках *C.submollis*.

Что касается густого экстракта побегов *C.monogyna*, получение данного образца лабораторными крысами достоверно не влияло на экскреторную функцию почек. Отсутствие креатининуриза и общего диуреза в отношении густого экстракта побегов *C.monogyna* напрямую связано с пониженным содержанием гиперозида в частях сырья данного представителя рода *Crataegus*.

В свою очередь введение фуросемида в дозировке 1 мг/кг оказывало влияние на экскреторную функцию почек, что приводило к достоверному повышению общего диуреза (на 23%) за 4 часа эксперимента. В то время как являвшийся препаратом сравнения гипотиазид, с используемой дозировкой 20 мг/кг (средняя терапевтическая доза), содействовал в большей степени достоверному росту суточного объема мочи (на 40 %) в группе опыта за 24 часа изучения относительно водного контроля.

6.3. Исследование антидепрессантных свойств густых экстрактов на основе побегов боярышника

С целью оценки антидепрессантной активности изучаемых образцов был использован поведенческий тест «Отчаяние» ("Forced swim test", Roger D. Porsolt). Для этого густые экстракты дозировкой 50 мг/кг были разведены в воде. Объем воды рассчитывался относительно массы тела крысы 3 %. Введение осуществляли при помощи зонда непосредственного в желудочно-кишечный тракт. В тоже время, группа контроля получала воду очищенную такого же объема. Сравнение результата проводилось по отношению к amitriptiline в дозе 5 мг/кг. Плавание по Порсолту проводили спустя 1 час после получения животными препаратов и

засчитывали время попытки крыс выбраться из емкости с водой. Таким образом, интерпретировали реакцию грызуна на угрозу утопления, результат которого был трактован как измерение восприимчивости к негативному настроению (табл. 21, 22).

Таблица 21 – Влияние густых экстрактов побегов боярышника на двигательную активность животных

	Контроль (Вода)	Густой экстракт побегов <i>C.sanguinea</i> , 50 мг/кг	Густой экстракт побегов <i>C.monogyna</i> , 50 мг/кг	Густой экстракт побегов <i>C.submollis</i> , 50 мг/кг	Амитриптилин, 5 мг/кг
Результат, %	–	129*	140*	164*	154*

Таблица 22 – Влияние амитриптилина на двигательную активность, в секундах

№ п/п	Название препарата	Время активного движения, с	Время активного движения, %
1	Контроль – вода	91,14±8,62	100
2	Амитриптилин	140,00±10,02*	154

В результате проведенного эксперимента внутрижелудочное введение густого экстракта побегов *C.sanguinea* в дозировке 50 мг/кг дает достоверное увеличение двигательной активности лабораторных крыс опытной группы сравнимо с водным контролем на 29% (уровень значимости составил 0,044). Аналогично этому эксперименту единичное получение лабораторными животными густого экстракта побегов *C.monogyna* с подобного рода дозировкой обеспечивает достоверное увеличение двигательной активности опытных лабораторных крыс в отношении контрольной группы животных на 40% (уровень значимости составил 0,014). В одинаковой мере разовое применение на лабораторных крысах густого экстракта побегов *C.submollis* в дозе 50 мг/кг также предоставляет достоверное поднятие двигательной активности животных на 64% (уровень значимости составил 0,010).

Высокий результат антидепрессантной активности для густого экстракта побегов *C.submollis* описывается присутствием большого количества гиперозида.

Следует отметить, что сумма флавоноидов в препарате оказывается самая низкая, доля гиперозида в нем самая высокая. При этом, побеги *C.monogyna* и *C.sanguinea* также содержат гиперозид, но он составляет лишь часть от общей суммы флавоноидов.

Таким образом, мы можем рекомендовать все три изучаемых экстракта для получения антидепрессантных лекарственных препаратов. При этом густой экстракт на основе побегов боярышника мягковатого является наиболее эффективным средством.

6.4. Возможность получения экстракционных препаратов

Как известно, сочные плоды боярышника мягковатого можно подвергать комплексной переработке [81, 126]. После отжима сока из плодов образуется пектин (осаждаемый спиртом из сока) и остается жом плодов. Жом после высушивания пригоден для получения экстракционных препаратов, таких как жидкий экстракт и настойка боярышника. Настойку плодов, как показали наши исследования эффективнее получать с использованием 70% этилгидрата и в соотношении 1 часть сырья и 5 частей экстрагента, а не 1:10, как было ранее [57]. Оценку качества настойки целесообразно вести по содержанию суммы восстановленных флавоноидов (процианидинов) в пересчете на катехин с применением $\lambda=282$ нм. Результаты наших исследований приведены в таблице 23.

Таблица 23 – Результаты анализа сырья и препаратов, полученных из высушенных плодов и жома боярышника в соотношении 1:5

№ п/п	Вид сырья	Содержание флавоноидов % (в пересчете на катехин)
1.	Высушенные плоды (без отжима сока) боярышника мягковатого	0,38±0,05
2.	Высушенный жом плодов боярышника мягковатого	0,40±0,05
3.	Настойка плодов (без отжима сока) боярышника кроваво-красного	0,36±0,02

4.	Настойка плодов (без отжима сока) боярышника однопестичного	0,41±0,02
5.	Промышленный образец препарата «Боярышника плодов настойка»	0,14±0,01

Анализ суммарного количества флавоноидов с учетом пересчета на катехин, произведенный в рамках исследования содержания действующих групп флавоноидов в полученной настойке *C. submollis*, что плоды боярышника мягковатого показывают результаты на уровне фармакопейных видов (боярышника однопестичного и боярышника кроваво-красного). Все полученные нами настойки превышали по содержанию действующих веществ промышленный образец, который также был получен с соотношением 1 часть сырья и 10 частей экстрагента. Также можно заметить, что настойка, полученная на основе жома плодов, оказывается несколько эффективнее по содержанию веществ в сравнении с настойкой, полученной из сырья, не подвергавшегося отжиму в свежем виде. Данное обстоятельство связано с лучшей экстракцией плодов после механического воздействия процесса прессования.

Другим важным продуктом, получаемым в процессе переработки свежих плодов боярышника мягковатого, является пектин, осажденный из нативного сока после прибавления спирта этилового и отстаивания. Высушенный пектин содержит некоторое количество флавоноидов и, после высушивания, может служить основой для таблетированных препаратов. При этом густой экстракт будет служить источником действующих веществ и в то же время способствовать формированию таблетки. По нашим данным, суммарное количество флавоноидов в пересчете на катехин в высушенном пектине составляет более 1 % (рис. 41) [81, 83, 124]. При этом полисахариды боярышника обладают биологической активностью [66].

6.5. Изучение подходов к анализу твердых лекарственных форм из густых экстрактов побегов боярышника

Получение густых, а также жидких экстрактов побегов боярышника является необходимым условием для создания твердых лекарственных форм, в частности, таблеток. Поэтому нами проводилось исследование возможности получения

сыпучих масс с использованием густых экстрактов боярышника кроваво-красного, боярышника мягковатого и боярышника однопестичного и пектина, осажденного из сока свежих плодов боярышника мягковатого.

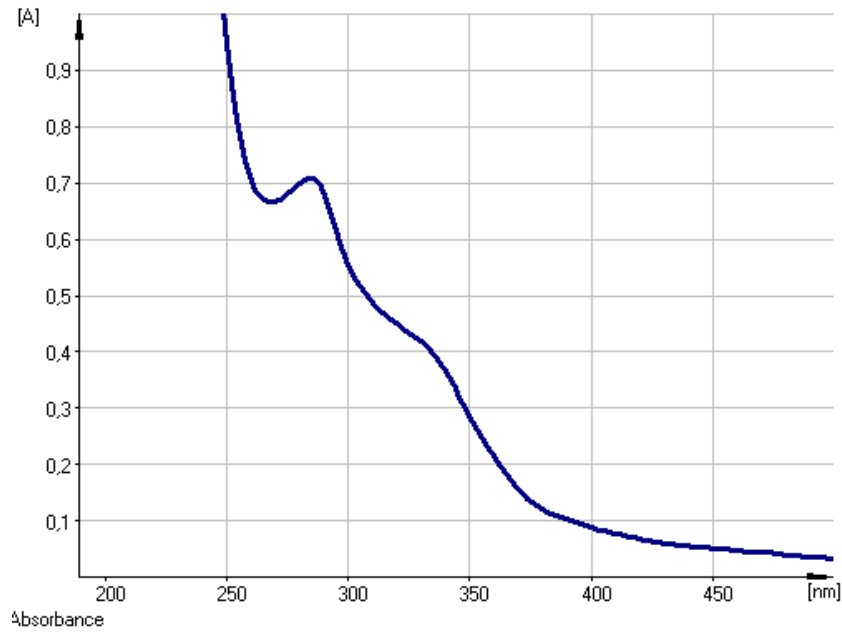


Рисунок 41 – Кривая поглощения извлечения остаточных флавоноидов из пектина

На основе высушенного пектина, лактозы и густых экстрактов побегов *C.submollis*, *C.monogyna*, *C.sanguinea* нами были получены массы для прессования сыпучестью 5 г/сек [25]. Для определения сыпучести использовали воронку с открытым выходным стволом диаметром 10 мм ± 0,01 мм. В воронку помещали массу навеской 10 г и засекали время, исследование проводили три раза. 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. Целью данного исследования было получение сыпучей смеси, пригодной для прессования. Нами была выбрана лактоза в качестве вспомогательного компонента, так как она не гигроскопична и широко используется в качестве наполнителя при получении таблеток. Кроме того, лактоза не обладает оптической активностью и не будет создавать дополнительные

сложности при анализе веществ боярышника при их совместном присутствии (рис. 42).

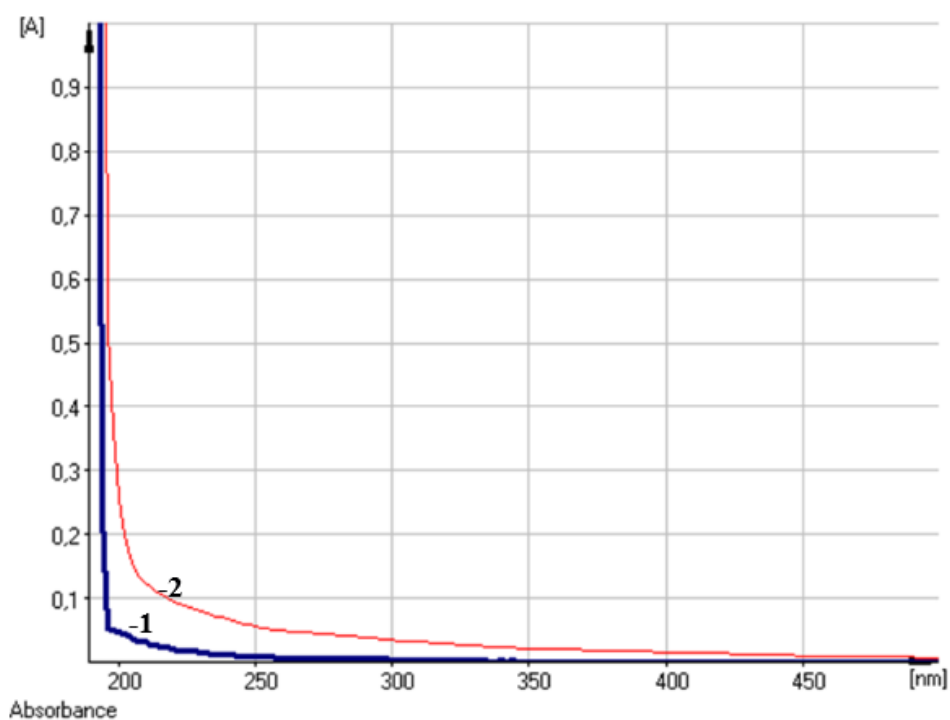
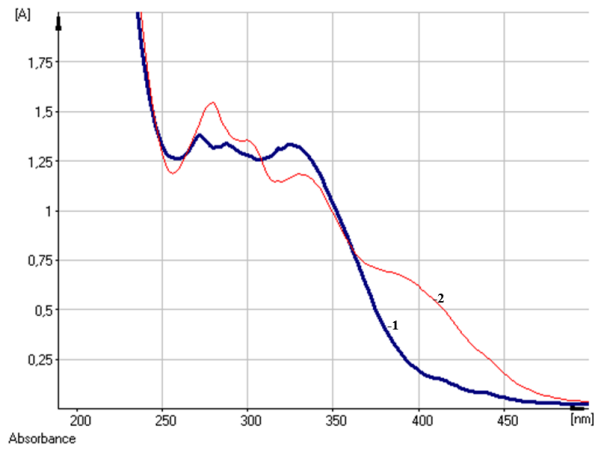


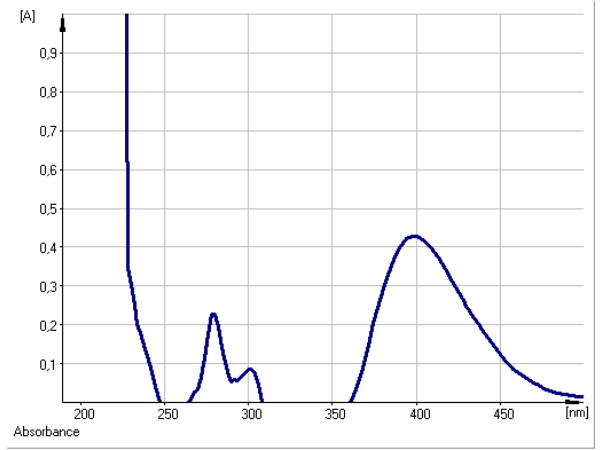
Рисунок 42 – Кривые поглощения раствора лактозы

Обозначения: 1 – исходный раствор; 2 – в присутствии $AlCl_3$

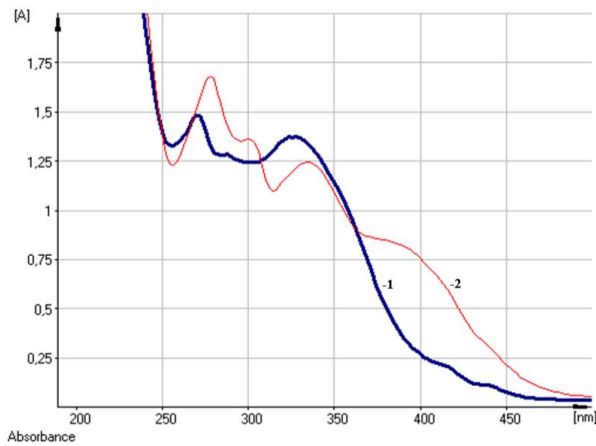
Все полученные таблеточные массы пектин и лактоза были исследованы с применением дифференциальной спектроскопии в ультрафиолетовой области. В пектине обнаруживаются флавоноиды, производные катехина, типичные для плодов боярышника. Лактоза, растворенная в 70% этилгидрате не дает максимумов поглощения в прямом и дифференциальном варианте спектрофотометрии. Результаты исследования извлечений из полученных сыпучих (таблеточных) масс для прессования приведены на рисунке 43.



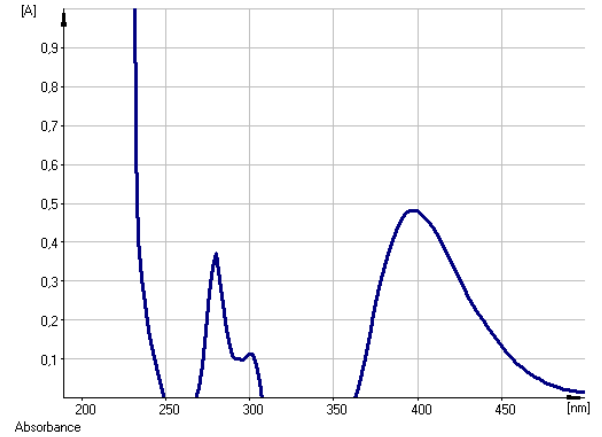
Кривые поглощения сыпучей массы с густым экстрактом побегов боярышника однопестичного



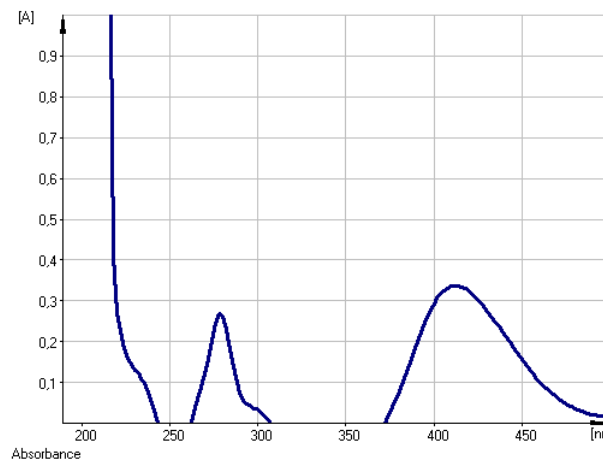
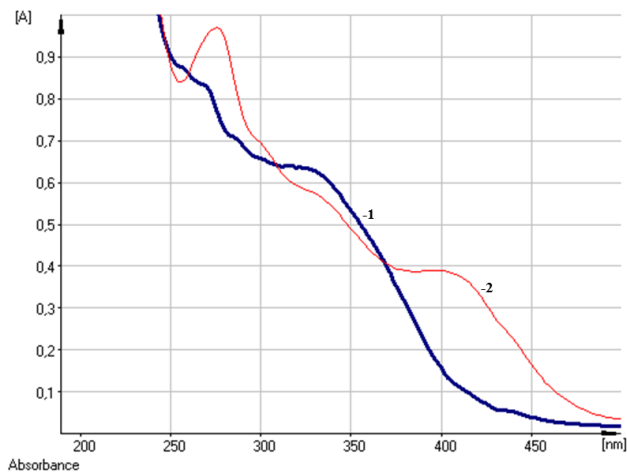
Кривая поглощения сыпучей массы с густым экстрактом побегов боярышника однопестичного (дифференциальная)



Кривые поглощения сыпучей массы с густым экстрактом побегов боярышника кроваво-красного



Кривая поглощения сыпучей массы с густым экстрактом побегов боярышника кроваво-красного (дифференциальная)



Кривые поглощения сыпучей массы с густым экстрактом побегов боярышника мягковатого с густым экстрактом побегов боярышника мягковатого (дифференциальная)

Рисунок 43 – Кривые поглощения извлечений сыпучих масс с густыми экстрактами.

Обозначения: 1 – исходный раствор; 2 – в присутствии $AlCl_3$.

При этом количественную оценку содержащихся в сыпучих массах флавоноидов расценивалась по методике, аналогичной методике для густого экстракта (табл. 24). Однако в данном эксперименте навеска для анализа составляла около 0,25 гр., раствор А после приготовления проходил фильтрацию сквозь фильтр бумажный обеззоленный для анализа с красной лентой, диаметром 12,5 см.

Таблица 24 – Результаты анализа образцов сыпучих масс с густыми экстрактами побегов боярышника

№ п/п	Образец исследования	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина, %	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, %
1.	Сыпучая масса с густым экстрактом побегов боярышника кроваво-красного	1,18±0,04	0,74±0,02
2.	Сыпучая масса с густым экстрактом побегов боярышника однопестичного	1,00±0,03	0,65±0,02
3.	Сыпучая масса с густым экстрактом побегов боярышника мягковатого	0,46±0,01	0,47±0,01

По окончании эксперимента были получены выводы о количественной оценке флавоноидов, содержащихся в исследуемых образцах. При этом количество

флавоноидов в сыпучей массе пропорционально введенному количеству соответствующего густого экстракта. То есть лактоза и пектин практически не влияют на высвобождение флавоноидов всех трех побегов боярышника.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 6

1. Густые экстракты побегов *C.sanguinea* и *C.submollis* обладают мягким диуретическим и выраженным креатининуретическим действием.
2. Густые экстракты побегов *C.sanguinea*, *C.submollis* и *C.monogyna* обладают антидепрессантным действием.
3. Густые экстракты побегов *C.sanguinea*, *C.submollis* и *C.monogyna* в дальнейшем могут использоваться для получения сыпучей смеси для прессования таблеток, в составе которых, кроме того, могут быть пектин и лактоза.
4. Пектин, осажденный из сока плодов боярышника, может быть компонентом твердых лекарственных форм, в том числе содержащих густой экстракт побегов боярышника.
5. Комплексная переработка плодов боярышника мягковатого возможна с получением настойки с высоким содержанием действующих веществ и пектина, который в дальнейшем может стать компонентом твердых лекформ, изготовленных из побегов боярышника.

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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аврач, А.С. Хромато-масс-спектрометрическое определение флавоноидов в плодах боярышника / А.С. Аврач, Е.В. Сергунова, И.А. Самылина // Фармация. – 2013. – № 3. – С. 14-16.
2. Акопов, И.Э. Важнейшие отечественные лекарственные растения и их применение / И.Э. Акопов. – М.: Медицина, 1986. – С. 172-174.
3. Анцышкина, А.М. О фармакологической активности препаратов боярышника / А.М. Анцышкина, Е.И. Барабанов, И.А. Самылина, Н.В. Каверина // Фармация. – 1990. – № 2. – С. 63-65.
4. Ареалы деревьев и кустарников СССР. В трех томах. // Т. 2, Изд-во «Наука» Ленинградское отделение, 1980. – 144 с.
5. Артюшенко, З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений: Семя / З.Т. Артюшенко. – Л.: «Наука», 1990. – С. 38-39.
6. Артюшенко, З.Т., Федоров А.А. Атлас по описательной морфологии высших растений: Плод / З.Т. Артюшенко, А.А. Федоров. – Л.: «Наука», 1986. – 392 с.
7. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР. М.: ГУГК, 1980. – С. 242-243.
8. Басырова, И.Р. Распространенность основных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний и их комбинаций у жителей города Оренбурга / И.Р. Басырова, Р.А. Либис // Аспирантский вестник Поволжья. – 2017. – № 1-2. – С. 48-53.
9. Башкирова, И.Б. Способность CO_2 экстрактов зверобоя продырявленного, боярышника кроваво-красного и родиолы розовой к подавлению роста микроорганизмов / И.Б. Башкирова, А.Г. Сергеев, В.Ф. Голиков, Л.П. Ларионов // Материалы конференции «Фармация и общественное здоровье». – Екатеринбург, 2008. – С. 32-35.
10. Беликов, В.В. Реакции комплексообразования в анализе флавоноидов / В.В. Беликов, Т.В. Точкова // Фенольные соединения и их физиологические свойства. – Алма-Ата, 1973. – С. 168-172.

11. Большой энциклопедический словарь лекарственных растений / под ред. Г.П. Яковлева. – 3-е изд., испр. и доп. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2015. – 759 с.
12. Буданцев, А.Л. Дикорастущие полезные растения России / А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: СПХФА, 2001. – 663 с.
13. Быков, В.И. К фитохимическому изучению боярышников, произрастающих на территории Хабаровского края / В.И. Быков // Вопросы фармации на Дальнем Востоке. Хабаровск. 1973. – Вып. 1. – С. 80-81.
14. Быков, В.И. Флавоноиды рода *Crataegus* / В.И. Быков, В.И. Глызин // Химия природных соединений. – 1972. – Т. 8, №. 5. – С. 657-657.
15. Вайс, Р.Ф. Фитотерапия. // Р.Ф. Вайс, Ф. Финтельманн / Руководство: Пер. с нем. – М.: Медицина, 2004. – С. 325-354.
16. Валеева, А.Р. Сравнительная характеристика влияния технологии экстракции на антиоксидантные свойства для плодов и цветков боярышника (*Crataegus*) / А.Р. Валеева, Н.В. Макарова, Д.Ф. Валиулина // Химия растительного сырья. – 2020. – № 1. – С. 157-166.
17. Воронин, А.В. Использование компьютерной программы «Chemmetr 1.0» для метрологической оценки методик фармацевтического анализа / А. В. Воронин, И. В. Сынбулатов // Национальная ассоциация ученых. – 2020. – Вып. 52. – Т. 3. – С. 45-49.
18. Гайнетдинова, А.А. Изучение антиоксидантной активности боярышника алма-атинского / А.А. Гайнетдинова, Н.К. Жалалова, П.А. Андресова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина // Вестник Башкирского государственного медицинского университета (сетевое издание). – 2019. – № 4. – С. 47-50.
19. Галушкин, С.Г. Сравнительный анализ урожайности зарослей *Crataegus* L. в Курской области / С.Г. Галушкин // Материалы научной конференции «Молодежная наука и современность», Курск. – 2010. – С. 256-257.
20. Георгиевский, В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комисаренко, С.Е. Дмитрук. – М.: Наука, 1990. – С. 101-109.

21. Георгиевский, В.П. Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидных соединений / В.П. Георгиевский, А.И. Рыбаченко, А.Л. Казаков. – Ростов на Дону: Издательство Ростовского университета, 1998. – С. 142.
22. Государственный реестр лекарственных средств / Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и социального развития, Научн. центр экспертизы средств медицинского применения. – М.: ООО «Инф.-изд. агентство «Ремедиум», 2008. Т.2. Типовые клинико-фармакологические статьи. – 1208 с.
23. Государственная Фармакопея Российской Федерации. 12-е издание. Ч.1. / Москва: «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008. – 704 с.
24. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Т.1-3. Москва, 2015.
25. Государственная Фармакопея Российской Федерации. – Четырнадцатое издание. – М.: Министерство здравоохранения РФ, 2018. / URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
26. Государственная фармакопея СССР. 11-е издание. Вып. 2. М.: Медицина, 1990. – 400 с.
27. Государственная фармакопея Республики Беларусь, Первое издание, Том 2. Минск, 2007.
28. Государственная фармакопея Республики Казахстан. Том 1. Алматы, 2008. – 592 с.
29. Губанов, И.А. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Том 3: Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные) / И.А. Губанов. – М.: Т-во научных изданий КМК, Ин-т технологических исследований, 2004. – С.496.
30. Гусакова, В.А. Изучение различных условий количественного определения на содержание флавоноидов на примере плодов *Crataegus submollis* Sarg. / В.А. Гусакова, П.А. Андреева, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина // Вестник Башкирского государственного медицинского университета (сетевое издание). – 2019. – № 4. – С. 50-61.

31. Девятловская, А.Н. Изучение содержания фитостероидов и анатомических частях боярышника кроваво-красного / А.Н. Девятловская, Л.Н. Журавлева, Ю.А. Алашкевич // Химия растительного сырья. – 2014. – № 2. – С. 195-198.
32. Дейнека, В.И. Антоцианы плодов некоторых видов боярышника (*Crataegus* L., *Rosaceae*) / В.И. Дейнека, С.Л. Макаревич, Л.А. Дейнека, Г.А. Фирсов, В.Н. Сорокопудов, М.Ю. Третьяков, С.А. Бакшуттов // Химия растительного сырья. – 2014. – № 1. – С. 119-124.
33. Деревья и кустарники СССР // Т. 3, Издание Академии наук СССР Москва-Ленинград, 1954. – 872 с.
34. Дрозд, Г.А. Ограничения и противопоказания для лекарственного растительного сырья: Информационно-аналитическое пособие по побочным эффектам лекарственных растений / Г.А. Дрозд. – Курск: КГМУ, 2006. – С. 58-59.
35. Дубищев, А.В. Нейротропная активность растительных препаратов, содержащих флавоноиды / А.В. Дубищев, Д.В. Кадацкая // Тезисы докладов X Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – Москва, 2003. – С. 713.
36. Евдокимова, О.В. Фармакологическое действие препаратов боярышника / О.В. Евдокимова // Современные проблемы фармацевтической науки и практики: научные труды ВНИИФ. – 1999. – Т. 38. – Ч. 2. – С.205-212.
37. Еникеева, К.Е. Выбор оптимальных условий извлечения антоциановых соединений из плодов боярышника мягковатого / К.Е. Еникеева, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, П.А. Андреева, Д.Д. Асадуллина, А.Р. Ярочкина // Вестник Башкирского государственного медицинского университета (сетевое издание). – 2018. – № 4. – С. 130-133.
38. Запесочная, Г.Г. Структурные исследования флавоноидов / Г.Г. Запесочная // Тезисы докладов Пятого Всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям. – Таллин, 1987. – С. 32-33.
39. Йорданов, Д. Фитотерапия / Д. Йорданов, П. Николов, Асп. Бойчинов. - София: Медицина и физкультура, 1970. – С. 135-137.

40. Каррер, П. Курс органической химии / П. Каррер / Пер. с нем. Государственное научно-техническое издательство химической литературы, Ленинград, 1962. – С. 717-729.
41. 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. – 295 с.
42. Киселева Т.Л., Карпеев А.А., Смирнова Ю.А., Амалицкий В.В., Сафонов В.П., Цветаева Е.В., Блинков И.Л., Коган Л.И., Чепков В.Н., Дронова М.А. Лечебные свойства пищевых растений / Т.Л. Киселева. – М.: Изд-во ФНКЭЦ ТМДЛ Росздрава. 2007. – 533 с., с ил.
43. Коропачинский, И.Ю. Древесные растения Азиатской России / И.Ю. Коропачинский, Н.Т. Встовкая. - Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. – 707 с.
44. Корсун, В.Ф. Энциклопедия фитотерапии. Травы жизни профессора Корсуна / В.Ф. Корсун, Е.В. Корсун. – М.: ЗАО Центролиграф, 2007. – С. 305-308.
45. Кудашкина, Н.В. Влияние некоторых видов лекарственного растительного сырья на систему гомеостаза *in vitro* / Н.В. Кудашкина, Э.Х. Галиахметова, Л.И. Баширова [и др.] // Традиционная медицина. – 2021. – № 1 (64). – С. 38-42.
46. Кузнецов, П.В. Именные (цветные) реакции в фармацевтическом и химико-токсикологическом функциональном анализе: учебное пособие / П.В. Кузнецов. – Кемерово: АИ «Кузбассвуиздат», 2016. – 167 с.
47. Куркин, В.А. Актуальные аспекты создания импортозамещающих лекарственных растительных препаратов / В.А. Куркин, И.К. Петрухина // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 11. – С. 366-371.
48. Куркин, В.А. Иллюстрированный словарь терминов и понятий в фармакогнозии: Учебное пособие для студентов медицинских и фармацевтических вузов, врачей и фармацевтических работников / В.А. Куркин, В.Ф. Новодранова, Т.В. Куркина. – Москва; Самара: ГП «Перспектива», СамГМУ, 2002. – 188 с.

49. Куркин, В.А. Фармакогнозия: Учебник для фармацевтических вузов (факультетов) / В. А. Куркин. – 5-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт»: ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2020. – 1278 с.
50. Куркин В.А. Основы фитотерапии: учебник / В.А. Куркин. - Самара: ООО «Офорт»; ФГОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2020. – 963 с.
51. Куркин, В.А. Этимология названий лекарственных растений: Учебное пособие для студентов медицинских и фармацевтических вузов (факультетов) / В.А. Куркин, Е.В. Бекишева, Т.В. Куркина. – Москва, 2000. – 44 с.
52. Куркин, В.А. Исследование по разработке методики стандартизации листьев боярышника кроваво-красного / В.А. Куркин, Т.В. Морозова, О.Е. Правдивцева // Химия растительного сырья. – 2017. – № 3. – С 169-173.
53. Куркин, В.А., Диуретическая и антидепрессантная активность густого экстракта боярышника кроваво-красного / В.А. Куркин, А.В. Куркина, Е.Н. Зайцева, А.В. Дубищев, О.Е. Правдивцева, Т.В. Морозова // Бюллетень сибирской медицины. – 2015. – № 14 (3). – С. 18-22.
54. 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, ОЕ. Правдивцева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 159. – № 3. – С. 348-352.
55. Куркин, В.А. Виды рода боярышник (*Crataegus* L.): стандартизация и создание лекарственных препаратов / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, И.Х. Шайхутдинов, А.В. Куркина, Е.Н. Зайцева, Н.А. Волкова. – Самара: ООО «Офорт», 2020. – 118 с.
56. Куркин, В.А. Сравнительное фитохимическое и микробиологическое исследование жидких экстрактов из плодов боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого / В.А. Куркин, Т.В. Морозова, И.Х. Шайхутдинов, А.В. Лямин, О.Е. Правдивцева, С.В. Первушкин, А.А. Кретьева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2019. – № 4. – С. 3-6.
57. Куркин, В.А. Разработка подходов к стандартизации свежих плодов боярышника полумягкого / В.А. Куркин, И.Х. Шайхутдинов, О.Е. Правдивцева,

Е.В. Авдеева, А.В. Куркина, В.В. Стеняева, Н.Р. Варина, А.В. Жданова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2020. – Т. 23. – № 3. – С. 37-42.

58. Куркин, В.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в цветках боярышника полумягкого. / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева Т.В. Морозова, А.В. Куркина, И.Х. Шайхутдинов, А.А. Кретьова // Химия растительного сырья. – 2019. – № 3. – С.137 – 144

59. 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. – Т. 54. – № 1. – С. – 14-18.

60. Куркин, В.А. Сравнительная фармакологическая активность препаратов плодов боярышника / В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, Е.В. Авдеева, В.В. Стеняева, И.Х. Шайхутдинов, А.В. Жданова, // Наука и инновации в медицине. – 2020. – Т. 5. – № 2. – С. 136-139.

61. Куркин, В.А. Содержание суммы флавоноидов в цветках боярышника полумягкого / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Т.В. Морозова, И.Х. Шайхутдинов, А.А. Кретьова // Материалы Международной научной конференции «Роль метаболизма в совершенствовании биотехнологических средств производств». – Москва, 2019. – С. 123-126.

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

63. 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.

64. 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.
65. Куркина, А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография / А.В. Куркина. – Самара: ООО «Офорт», ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 290 с.
66. Лигачева, А.А. Влияние водорастворимых полисахаридов *Crataegus sanguinea* Pall. на продукцию оксида азота макрофагами / А.А. Лигачева, Е.Ю. Шестрбоев, М.Г. Данилец, Е.С. Трофимова, С.В. Кривошеков, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, А.М. Гурьев, М.В. Белоусов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 172. – № 8. – С. 178-181.
67. Литвиненко, В.И. Биогенез и классификация флавоноидов / В.И. Литвиненко // Тезисы докладов Пятого Всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям. – Таллин, 1987. – С. 53-55.
68. Маевский, П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. 11-е издание / П.Ф. Маевский. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 635 с.
69. Махлаюк, В.П. Лекарственные растения в народной медицине / В.П. Махлаюк. – Саратов: Приволж. кн. изд-во, 1991. – 544 с.
70. Машковский, М. Д. Лекарственные средства: пособие для врачей. / М.Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: Новая волна, 2008. – 425 с.
71. Минина, С.А. Химия и технология фитопрепаратов: учебное пособие. – 2-е изд., перераб. и доп. / С.А. Минина, И.Е. Каухова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 560 с.
72. Морозова, Т.В. Изучение антидепрессантных свойств жидких экстрактов на основе сырья боярышника полумягкого / Т.В. Морозова, В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, О.Е. Правдивцева, А.В. Дубищев, П.В. Афанасьева, А.А. Кретьева, Г.Ф. Гамирова // Вестник Башкирского государственного медицинского университета (сетевое издание). – 2018. – № 4. – С. 150-155.

73. 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. – Т. 66. – № 4. – С. 37-39.
74. Мухаметова, С.В. Содержание каротина и сахара в плодах некоторых видов рода *Crataegus*, культивируемых в условиях Республики Марий Эл / С.В. Мухаметова // Растительные ресурсы. – 2019. – Т. 55. – № 1. – С. 122-129.
75. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / Под ред. проф. В.Л. Багировой, проф. В.А. Северцева. – Санкт-Петербург: Спецлит. – 2001. – 223 с.
76. Носаль, М.А. Лекарственные растения и способы их применения в народе / М.А. Носаль, И.М. Носаль. – Мн.: Полымя, 1997. – С. 77-82.
77. Палов, М. Энциклопедия лекарственных растений. Пер. с немец. под ред. И.А. Губанова / М. Палов. – М.: Мир, 1998. – С. 467.
78. Пастушенков, Л.В. Лекарственные растения: Использование в народной медицине и быту / Л.В. Пастушенков, А.Л. Пастушенков, В.Л. Пастушенков. – Л.: Лениздат, 1990. – 384 с.
79. Пат. 2494703 Российская Федерация, МПК А61D 7/00. Способ получения диуреза у лабораторных животных / Зайцева Е.Н.; заявитель и патентообладатель Зайцева Е.Н. 2012104057/13; заявл. 06.02.2012; опубл. 10.10.2013, Бюл. № 28.
80. Пат. 115651 Российская Федерация, МПК А61D 7/00. Устройство для введения водной нагрузки лабораторным животным / Зайцева Е.Н., Зайцев А.Р., Дубищев А.В.; заявитель и патентообладатель Зайцева Е.Н., Зайцев А.Р., Дубищев А.В. 2011138631/13; заявл. 20.09.11; опубл. 10.05.2012, Бюл. №13.
81. Пат. 2698325 Российская Федерация, МПК А61К 36/734, А61Р 7/10. Сок из свежих плодов боярышника мягковатого, обладающего диуретической активностью / Куркин В.А., Зайцева Е.Н., Правдивцева О.Е., Шайхутдинов И.Х.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. 2019114928; заявл. 15.05.19; опубл. 26.08.2019, Бюл №24.
82. Пашинский, В.Г. Растения в терапии и профилактике болезней / В.Г. Пашинский. – Томск: Издательство Томского университета, 1989.

83. Первушкин, С.В. Использование шрота некоторых видов лекарственного растительного сырья для изготовления водных извлечений / С.В. Первушкин, Л.Д. Климова, О.В. Бер, Т.В. Кукина, А.А. Мастерова, А.С. Калеткина // Сборник тезисов конференции «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции». – Пятигорск, 2004. – Вып. 59. – С. 108-110.
84. Попов, И.В. Проблемы использования ресурсов дикорастущих лекарственных растений / И.В. Попов // Труды научно-практической конференции «Фармация из века в век». – Санкт-Петербург, 2008. – Часть 3. – С. 124-128.
85. Правила сбора и сушки лекарственных растений (сборник инструкций). М.: Медицина, 1985. – 328 с.
86. Природные лекарственные препараты: химический анализ и стандартизация / И. Н. Зилфикаров // Справочное и научно-практическое издание. – Москва: Издательство «СЛОН ПО». – 2021. – 712 с., ил.
87. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства *Hydrangeaceae-Haloragaceae*. – Л.: Наука, 1987. – С. 34-42.
88. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. – СПб.;М: Товарищество научных изданий КМК, 2009. – Т. 2. – С. 191-197.
89. Сагарадзе, В.А. Определение флавоноидов в цветках с листьями боярышника методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием / В.А. Сагарадзе, Е.В. Бабаева, Е.И. Каленикова // Химико-фармацевтический журнал. – 2017. – № 51 (4). – С. 30-33.
90. Сагарадзе, В.А., Бабаева Е.Ю., Уфимов Р.А., Загурская Ю.В., Трусов Н.А., Коротких И.Н., Маркин В.И., Можяева Г.Ф., Каленикова Е.И. Содержание флавоноидов в цветках с листьями боярышников (*Crataegus L.*) флоры РФ // Химия растительного сырья. – 2018. – №4. – С. 95-104.
91. Сагарадзе, В.А., Бабаева Е.Ю., Определение некоторых технологических параметров сырья боярышника / В.А. Сагарадзе, Е.Ю. Бабаева // Сборник трудов

третьей научно-практической конференции «Молодые ученые и фармацевтика XXI века». – М.: ВИЛАР, 2015. – С. 351-353.

92. Самбукова, Т.В., Овчинников, Б.В., Ганапольский, В.П., Ятманов, А.Н., Шабанов, П.Д. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т.В. Самбукова, Б.В. Овчинникова, В.П. Ганапольский, А.Н. Ятманов, П.Д. Шабанов // Фитофармакология. – 2017. – Т. 15. – № 2. – С. 56-63.

93. Самылина, И.А. Проблемы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных средств / И.А. Самылина // Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты: Материалы I Международного научного конгресса. – М.: Институт традиционных методов лечения МЗ РФ и др., 1994. – 254 с.

94. Самылина, И.А. Атлас лекарственных растений и сырья. Учебное пособие по фармакогнозии / И.А. Самылина, А.А. Сорокина. – М.: Авторская Академия; Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 318 с.

95. Самылина, И.А. Пути использования лекарственного растительного сырья и его стандартизация / И.А. Самылина, И.А. Баландина // Фармация. – 2004. – № 2. – С. 39-41.

96. Самылина, И.А. О фармакологической активности препаратов боярышника / И.А. Самылина // Фармация. – 1990. – Т. 2. – С. 63-65.

97. 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.

98. Самылина, И.А. Боярышник (*Crataegus*): возможности медицинского применения / И.А. Самылина, А.А. Сорокина, Н.В. Пятигорская // Фарматека. – 2010. – № 8. – С.83-85.

99. Сергунова, Е.В. Сравнительный анализ состава настоек матричных гомеопатических из свежих, замороженных и высушенных плодов / Е.В. Сергунова // Фармация. – 2017. – Т. 66. – № 1. – С. 48-51.

100. Сергунова, Е.В. Влияние отрицательных температур на проявляемость диагностических признаков плодов боярышника и рябины обыкновенной / Е.В. Сергунова // Фармация. – 2016. - № 1. – С. 9-13.

101. Сидора, Н.Ф. Изучение фенольных соединений плодов североамериканских видов боярышников / Н.Ф. Сидора, Н.В. Ковалева, А.М. Комиссаренко, А.Н. Гончаров // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2006. – Т 9 (2). – С. 149-155.
102. Современная фитотерапия / Под ред. В. Петкова. — София: Медицина и физкультура, 1988. – 504 с.
103. Соколов, С.Я. Справочник по лекарственным растениям / С.Я. Соколов, И.П. Замотаев. – Москва: Медицина, 1984. – 464 с.
104. Сохина, А.А. Внедрение безотходных технологий при переработке некоторых видов лекарственного растительного сырья / А.А. Сохина, С.В. Первушкин, А.В. Воронин // Сборник научных трудов конференции Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Пятигорск, 2004. – Вып. 59. – С. 125-126.
105. Трофимова, С.В. Изучение антиаритмической активности листьев *Crataegus sanguinea* (Rosaceae) / С.В. Трофимова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, Н.Ж. Басченко, Т.А. Сапожникова, Р.Ю. Хисамутдинова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – № 2. – С. 299-302.
106. Турищев, С. П. Фитотерапия: Учебное пособие для студентов высших медицинских учебных заведений / С. П. Турищев. – М.: Издательский дом «Академия», 2003. – С. 137-143.
107. Тюкавкина, Н.А. Биомедицинский анализ флавоноидных соединений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Н.А. Тюкавкина, С.К. Еремин, Ю.А. Колесник, И.В. Шервашидзе, Н.Н. Артемьева // Тезисы Четвертого Всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям. – Ташкент, 1982. – С. 78-79.
108. Тюкавкина, Н.А. Использование ВЭЖХ в области фенольных соединений / Н.А. Тюкавкина // Тезисы докладов Пятого Всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям. – Таллин, 1987. – С. 112-113.
109. Флора СССР. Москва, Ленинград: Издательство академии наук СССР, 1939. – С. 416-468.

110. Фурса, Н.С. Сравнительный анализ фенольных соединений представителей подклассов дилленииды, розиды и астерида / Н.С. Фурса, Н.К. Вавилова, А.В. Деготь, В.И. Ошмарина, Н.А. Гриненко, А.В. Бурбо, Е.А. Краснокукотская, Н.К. Попова // Тезисы докладов пятого Всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям. Секция Химии. – Таллин, 1987. – С. 116-117.
111. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. – Москва, 2005. – 832 с.
112. Хажжар, Ф. Стандартизация густого экстракта из плодов боярышника / Ф. Хажжар, С.В. Горяинов, О.Г. Потанина, Р.А. Абрамович // Сборник трудов седьмой научной конференции «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения». – М.: ВИЛАР, 2019. – С. 335-343.
113. Хасанова, С.Р. Определение флавоноидного состава листьев боярышника кроваво-красного из флоры РБ методом ВЭЖХ / С.Р. Хасанова, С.В. Трофимова, Н.В. Кудашкина // Современная медицина и фармацевтика: анализ и перспективы развития: материалы 8 Международной научнопрактической конференции. – М., Изд-во «Спутник». – 2013. – С. 36.
114. Хасанова, С.Р. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в растительном сборе «Кардиофит» / С.Р. Хасанова, А.П. Потанина, Н.В. Кудашкина // Башкирский химический журнал. – 2013. – Т 20. – № 3. – С. 60-62.
115. Хасанова, С.Р. Сравнительный анализ химического состава липофильных фракций побегов трех видов рода *Crataegus* L. / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, В.А. Гусакова, Н.К. Жалалова // Химия растительного сырья. – 2021. – №4. – С. 373-380.
116. Хишова, О.М. Количественное определение процианидинов плодов боярышника / О.М. Хишова, Г.Н. Бузук // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – Т. 2. – № 2. – С. 20-22.

117. Хишова, О.М. Количественное определение процианидинов в листьях боярышника / О.М. Хишова, А.С. Чаботько // III Гаммермановские чтения. С-Пб. – 2017. – С. 139-141.
118. Хишова, О.М. Сравнительная количественная оценка содержания флавоноидов в растительном сырье боярышника кроваво-красного / О.М. Хишова, Т.В. Родионова // Вестник фармации. – 2008. – № 1 (39). – С. 15-17.
119. Черепнин, В.Л. Пищевые растения Сибири / В.Л. Черепнин. – Новосибирск: Наука, 1987. – 192 с.
120. Шайхутдинов, И.Х. Фармакогностическое и фармакологическое исследование жидкого экстракта цветков боярышника полумягкого / И.Х. Шайхутдинов, Т.В. Морозова, В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина, В.В. Стеняева // Аспирантский вестник Поволжья. – 2019. – № 5-6. – С. 160-164.
121. Шайхутдинов, И.Х. Морфолого-анатомическое исследование особенностей строения плодов боярышника полумягкого (*Crataegus submollis* Sarg.) / И.Х. Шайхутдинов, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, В.М. Рыжов, Л.В. Тарасенко, В.В. Стеняева, Т.М. Жавкина, С.А. Розно // Аспирантский вестник Поволжья – 2020. – № 1-2. – С.164-170.
122. Шайхутдинов, И.Х. Разработка подходов к стандартизации плодов боярышника мягковатого. / И.Х. Шайхутдинов, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // Фармация. – 2020. – Т. 69. – № 6. – С. 20-24.
123. Шайхутдинов, И.Х. Содержание суммы флавоноидов в плодах боярышника мягковатого / И.Х. Шайхутдинов, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, А.А. Кретьова, А.В. Севастьянова // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. – Уфа, 2019. – № 4. – С. 371 – 374.
124. Шайхутдинов, И.Х. Изучение антидепрессантной активности сока плодов боярышника полумягкого / И.Х. Шайхутдинов, В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, О.Е. Правдивцева // Сборник трудов седьмой научной конференции с международным участием. «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения». – Москва, 2019. – С. 505 – 508.

125. Шайхутдинов, И.Х. Изучение антидепрессантной и диуретической активности препаратов плодов боярышника мягковатого / И.Х. Шайхутдинов, Т.В. Морозова, А.А. Базитова, А.А. Кретьева, В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, О.Е. Правдивцева // В сборнике трудов шестой научной конференции с международным участием: «Молодые ученые и фармация XXI века». – Москва, 2018. – С. 302-306.
126. Шайхутдинов, И. Х. Способ переработки свежих плодов боярышника полумягкого / И.Х. Шайхутдинов, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина, А.А. Кретьева // Материалы международной научной конференции «От растения до лекарственного препарата», ФГБНУ ВИЛАР – Москва, 2020. – С. 353 – 357.
127. Шамрук, С.Г. Лекарственные растения: сбор, заготовка, применение. Справочное пособие / С.Г. Шамрук. – Минск: Ураджай, 1988. – 287 с.
128. Шаршунова, М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии / М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец. – М.: Мир, 1980. – Т. 1-2. – С. 20.
129. Шемякина А.В. Боярышник (*Crataegus* L.) на Российском Дальнем Востоке // Материалы международной конференции «Перспективы лекарственного растениеводства». – М.: ВИЛАР, 2018. – С. 135-138.
130. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения: Учебное пособие / Под ред. Г.П. Яковлева и К.Ф. Блиновой. – СПб.: Специальная литература, 1999. – 407 с.
131. Bekbolatova, E. Phenolic composition and antioxidant potential of different organs of Kazakh *Crataegus almaatensis* Pojark: A comparison with the European *Crataegus oxyacantha* L. flowers / E. Bekbolatova, W. Kukula-Koch, T. Baj, N. Stasiak, G. Ibadullayeva, W. Koch, K. Głowniak, S. Tulemissov, Z. Sakipova, F. Boylan // Open Chemistry. – 2018. – Vol. 16. – N. 1. – P. 415-426.
132. Cao P.N. Optimizing Water-Based Extraction of Bioactive Principles of Hawthorn: From Experimental Laboratory Research to Homemade Preparations / Phu Cao Ngoc, Laurent Leclercq, Jean-Christophe Rossi, Isabelle Desvignes, Jasmine Hertzog, Anne-Sylvie Fabiano-Tixier, Farid Chemat, Philippe Schmitt-Kopplin, Herve Cottet // Molecules. – 2019. – N. 24 (23), 4420. – P. 1-32.

133. Chang, Qi. Hawthorn / Qi Chang, Zhong Zuo, Francisco Harrison, Moses Sing Sum Chow // *Journal Clinical Pharmacology*. – 2002. – № 42. – P. 605-612.
134. Chen Z.Y. Change and the impact of IFHL on oxidative stress in the formation of NASH in rats / Chen Z.Y., Yan M.X., He B.H. The Change and the impact of IFHL on oxidative stress in the formation of NASH in rats // *J. Med. Res.* – 2007. – Vol. 36. – P. 33–36.
135. Christensen, I. K. Revision of *Crataegus* Sect. *Crataegus* and *Nothosect. Crataeguineae* (Rosaceae-Maloideae) in the Old World / I.K. Christensen. – Denmark, 1992. – P. 199.
136. *European Pharmacopoeia*. – 6-th Ed. -Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 2008.
137. Harborne, J.B. *Comparative Biochemistry of the Flavonoids* / J.B. Harborne // London: Academic Press inc., 1967. – P. 80-89.
138. Hu, M. Evaluation of a *Crataegus*-based multiherb formula for dyslipidemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial / Hu M., Zeng W, Tomlinson B. // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. – 2014.
139. Ji, Y.S. Protective effect and its molecular mechanism of FMCL on PC 12 cells apoptosis induced by H₂O₂ / Ji Y.S., Li H., Yang S.J. // *Chin. Pharmacol. Bull.* – 2006. – Vol. 22. – P. 760–762.
140. Jie, Wang. Effect of *Crataegus* Usage in Cardiovascular Disease Prevention: An Evidence-Based Approach / Jie Wang Xing jiang Xiong, Bo Feng // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. – 2013.
141. Li, C.Q. Study on germicidal efficacy of extract of hawthorn fruit pit and its influencing factors / Li C.Q., Wu W., Tong Y. // *Chin. J. Disinfect.* – 2007. – Vol. 24. – P. 50–52.
142. Li, L. Anti-aging effect of total flavone of hawthorn leaf / Li L., Lv H., Pang H. // *Lishizhen Med. Mater. Med. Res.* – 2007. – Vol. 9. – P. 2143–2144.
143. Lin, L. Experimental observation on germicidal efficacy of hawthorn liquid and its influencing factors / Lin L., Chen Y.J., Li L., Cao Y., Sun Q.X. // *Chin. J. Disinfect.* – 2000. – Vol. 17. – P. 85–88.


144. Liu, X.Y. Study on lipid regulation mechanism of total flavonoids from *Folium crataegi* by 3T3-L1 cells / Liu X.Y., Zhou L., Liang R.Y. // Chin. Arch. Tradit. Chin. Med. – 2009. – N. 27. – P. 1066–1068.
145. Lo, E. Y. Evidence for genetic association between East Asian and western North American *Crataegus* L. (Rosaceae) and rapid divergence of the eastern North American lineage based on multiple DNA sequences / E.Y. Lo, S. Stefanovic, T. A. Dickinson, K. I. Christensen // Mol. Phylogenet. – 2009. – Vol. 51. – P. 157–168.
146. Mot, C.A. The chemical composition and pharmaceutical usage of Hawthorn (*Crataegus monogyna* L.) extracts / C.A. Mot, D. Copolovici, E. Madosa, G. Mot, L. Copolovici // Journal of Biotechnology. – 2016. – N. 231. – P. 59.
147. Mudge, E.M. Single-Laboratory Validation for the Determination of Flavonoids in Hawthorn Leaves and Finished Products by LC-UV / Mudge E.M., Liu Y, Lund J.A., Brown P.N. // Planta Medica. – 2016. – N. 82 (17). – P. 1487-1492.
148. Pal, S.K. Herbal medicine: current status and the future / S.K. Pal, Y. Shukla // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2003. – N. 4(4). – P. 281-288.
149. Pittler, M.H. Hawthorn extract for treating chronic heart failure: meta-analysis of randomized trials / M.H. Pittler, K. Schmidt, E Ernst // American Journal of Medicine. – 2003. – N. 114(8). – P. 665-774.
150. Rastogi, S. Traditional herbs: a remedy for cardiovascular disorders / S Rastogi, M.M. Pandey, A.K. Rawat // Phytomedicine. – 2016. – N. 23(11). – P. 1082-1089.
151. Schmidt, U. Efficacy of the hawthorn (*Crataegus*) preparation LI 132 in 78 patients with chronic congestive heart failure defined as NYHA functional class II / Schmidt U., Kuhn U., Ploch M., Hubner W.D. // Phytomedicine. – 1994. – Vol. 1. – P. 17-24.
152. Sydora, N.V. Phytochemical research of *Crataegus submollis* Sarg. leaves lipophilic complex and study of its antibacterial activity / N.V. Sydora, A. M. Kovaleva, V.K. Iakovenko, T.V. Ilyina, E.V. Krivoruchko // Der Pharmacia Lettre. – 2016. – Vol. 8, N. 21. – P. 19-23.
153. Yang, R.M. Mechanism of early atherosclerosis in guinea pig: abnormal metabolism of LDL-C / Yang R.M., Chen H.M., Gao N.N., Song X., Li J.L., Cai, D.Y. // Acta Lab. Anim. Sci. Sin. – 2011. – Vol. 23. – P. 237–241.

154. Wang, C.L. Chemical constituent, pharmacological effects and clinical application of *Crataegus pinnatifida* / Wang C.L., Lu B.Z., Hou G.L. // *Strait Pharm. J.* – 2010. – Vol. 3. – P. 75–78.
155. Zorniak, M. *Crataegus* special extract ws 1442: up-to-date review of experimental and clinical experiences / Zorniak M., Szydło B., Krzeminski T.F. // *Journal of physiology and pharmacology.* – 2017. – N. 68 (4). – P. 521-526.
156. Vickery, R. *A Dictionary of Plant Lore* / R. Vickery. – London: Oxford University Press, 1995. – 437 p.
157. Wells T.C. Studies in *Crataegus* (*Rosaceae*, *Maloideae*) XX. Interserial hybridization between *Crataegus monogyna* (series *Oxyacanthae*) and *Crataegus punctata* (series *Punctata*) in southern Ontario / T.C. Wells, J.B. Phipps // *Canadian Journal of Botany.* – 1989. – N. 67. – P. 2465-2472.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Акты о внедрении результатов диссертационного исследования

«Утверждаю»
Начальник ГБУЗ
«Центр контроля качества
лекарственных средств
Самарской области»
О.В. ОСИПОВА
2022 г.



АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Волковой Надежды Александровны «Фармакогностическое исследование сырья представителей рода *Crataegus* L. как перспективного источника биологически активных соединений» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия 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 Черняевой Н.А., провизора-аналитика Шарымовой О.А., подтверждает использование материалов диссертационного исследования Волковой Н.А., посвященного фармакогностическому исследованию растений рода Боярышник при анализе лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе. Разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы Центра. В основе разработанных методик лежат методологические подходы, предусматривающие использование ТСХ, ВЭЖХ и УФ-спектроскопии. Методики определения подлинности сырья и препаратов на основе сырья боярышника, а также методики определения суммы флавоноидов в данном виде сырья воспроизводимы и удобны в работе.

Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Волковой Н.А. будет способствовать повышению объективности стандартизации растительного сырья боярышника, а также лекарственных растительных препаратов на основе данного вида сырья.

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

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

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

 Л.Е. ЖНЯКИНА
 Н.А. ЧЕРНЯЕВА
 О.А. ШАРЫМОВА

443070, г. Самара, ул. Партизанская, д. 33

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ЗАО «Самаралектравы»

Н.Д. Лужнов

2022 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Волковой Надежды Александровны «Фармакогностическое исследование сырья представителей рода *Crataegus* L. как перспективного источника биологически активных соединений» 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 Волковой Н.А., посвященного изучению химического состава, а также разработке методик анализа сырья различных видов боярышника, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации новых видов лекарственного растительного сырья – «Боярышника кроваво-красного побегов» и «Боярышника полумягкого побегов», а также лекарственного растительного препарата – «Боярышника побегов экстракт густой» в работе предприятия.

Разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы предприятия. Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов на основе боярышника.

Члены комиссии:Заведующий производством
ЗАО «Самаралектравы»

А.Н. Загорянский

Главный инженер
ЗАО «Самаралектравы»

А.В. Никитенков

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Самарская фармацевтическая
фабрика»

М.С. Глебов

09 2022 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов диссертационной работы
Волковой Надежды Александровны «Фармакогностическое исследование сырья
представителей рода *Crataegus* L. как перспективного источника биологически активных
соединений» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по
специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия в ООО «Самарская
фармацевтическая фабрика»

Результаты диссертационной работы Волковой Н.А. посвящены фармакогностическому исследованию растений рода Боярышник (*Crataegus* L.), разработке методик количественного определения содержания биологически активных соединений, а также обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и препаратов. В основе разработанных методик лежат методологические подходы, предусматривающие использование морфолого-анатомического анализа, ТСХ и УФ-спектроскопии, ВЭЖХ методов с использованием стандартных образцов. Методики определения подлинности сырья и препаратов на основе сырья боярышника, а также методики определения суммы флавоноидов в побегах воспроизводимы и удобны в работе.

Таким образом, разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы, внедренные результаты используются в рабочем процессе ООО «Самарская фармацевтическая фабрика» и способствуют стандартизации ЛРС на этапах приемки, производства и хранения; 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

« 22 » 09 2022 г.

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор ООО «Лекарь»
Бобров Д.Ю.

2022 г.

Акт внедрения

результатов диссертационной работы Волковой Надежды Александровны «Фармакогностическое исследование сырья представителей рода *Crataegus* L. как перспективного источника биологически активных соединений» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия в ООО «Лекарь»

Результаты диссертационной работы Волковой Н.А. посвящены фармакогностическому исследованию растений рода Боярышник (*Crataegus* L.), разработке методик количественного определения содержания биологически активных соединений, а также обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и препаратов. В основе разработанных методик лежат методологические подходы, предусматривающие использование морфолого-анатомического анализа, ТСХ и УФ-спектроскопии, ВЭЖХ методов с использованием стандартных образцов. Методики определения подлинности сырья и препаратов на основе сырья боярышника воспроизводимы и удобны в работе.

Разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы, внедренные результаты используются в рабочем процессе ООО «Лекарь» и способствуют стандартизации лекарственного растительного сырья на этапах приемки, производства и хранения, 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 «Лекарь»

« 27 » 09 2022 г.

“Утверждаю”

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,
лауреат премии Правительства РФ,
доктор медицинских наук, профессор

И.Л. Давыдкин

“ _____ ” 2022 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы
Волковой Надежды Александровны «Фармакогностическое исследование сырья
представителей рода *Crataegus* L. как перспективного источника биологически
активных соединений» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических
наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия на
кафедре фармацевтической технологии с курсом биотехнологий ФГБОУ ВО
СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармацевтической технологии с
курсом биотехнологий: зав. кафедрой, д.фарм.н., доцента Куркиной А.В.,
профессора кафедры, д.фарм.н., профессора Первушкина С.В., доцента кафедры,
к.фарм.н., доцента Климовой Л.Д. подтверждает использование материалов
диссертационного исследования Волковой Н.А., посвященного изучению
химического состава, определению диагностических признаков и обоснованию
подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья растений рода
Боярышник в учебном процессе при проведении практических занятий со
студентами, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты способствуют повышению объективности
стандартизации лекарственных препаратов на основе сырья видов рода
Боярышник.

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,
доктор медицинских наук, профессор
И.Л. Давыдкин
“ 11 ” _____ 2022 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы
Волковой Надежды Александровны «Фармакогностическое исследование сырья
представителей рода *Crataegus* L. как перспективного источника биологически
активных соединений» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических
наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия 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 диссертационного исследования
Волковой Н.А., посвященного изучению химического состава, определению
диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации
лекарственного растительного сырья растений рода Боярышник в учебном
процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-
исследовательской работе в области изучения лекарственного растительного сырья
и лекарственных растительных препаратов, содержащих флавоноиды.

Внедренные результаты способствуют повышению объективности
стандартизации лекарственных препаратов на основе лекарственного
растительного сырья боярышника.

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
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,
лауреат премии Правительства РФ,
доктор медицинских наук, профессор


И.Л. Давыдкин

“ _____ ” 2022 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы
Волковой Надежды Александровны «Фармакогностическое исследование сырья
представителей рода *Crataegus* L. как перспективного источника биологически
активных соединений» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических
наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия на
кафедре управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава
России

Комиссия в составе сотрудников кафедры управления и экономики фармации:
зав. кафедрой, д.фарм.н., доцента Петрухиной И.К., профессора кафедры,
д.фарм.н., доцента Гладуновой Е.П., доцента кафедры, к.фарм.н., доцента
Абдулмановой Е.Л. подтверждает использование материалов диссертационного
исследования Волковой Н.А., посвященного изучению химического состава,
определению диагностических признаков и обоснованию подходов к
стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) растений рода
Боярышник, в учебном процессе при проведении практических занятий со
студентами, а также в научно-исследовательской работе в области изучения
лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды.

Внедренные результаты способствуют получению студентами новых знаний
об ассортименте кардиотропных лекарственных препаратов (ЛП), в том числе в
части расширения ассортимента ЛП и ЛРС.

Члены комиссии:

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

 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

“Утверждаю”

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,
лауреат премии Правительства РФ,
доктор медицинских наук, профессор

 И.Л. Давыдкин

“ 10 ” _____ 2022 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы
Волковой Надежды Александровны «Фармакогностическое исследование сырья
представителей рода *Crataegus* L. как перспективного источника биологически
активных соединений» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических
наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия 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., профессора Куркина В.А.,
профессора кафедры, д.фарм.н., доцента Правдивцевой О.Е., доцента кафедры,
к.фарм.н., доцента Рыжова В.М., подтверждает использование материалов
диссертационного исследования Волковой Н.А., посвященного изучению вопросов
фитохимической и морфолого-анатомической диагностики, обоснованию
подходов к стандартизации лекарственного сырья и препаратов на основе растений
рода боярышник в учебном процессе при проведении практических занятий со
студентами и ординаторами, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты способствуют повышению объективности
стандартизации лекарственного растительного сырья видов рода Боярышник.

Члены комиссии:

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



В.А. Куркин

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



О.Е. Правдивцева

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



В.М. Рыжов

Приложение 2. Патент на изобретение

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 772 208** (13) **C1**

(51) МПК
G01N 21/00 (2006.01)
A61K 36/734 (2006.01)
B01D 11/02 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 21/00 (2021.08); *A61K 36/734* (2021.08); *B01D 11/02* (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2021100661, 13.01.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
13.01.2021Дата регистрации:
18.05.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 13.01.2021

(45) Опубликовано: 18.05.2022 Бюл. № 14

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),
Волкова Надежда Александровна (RU),
Шайхутдинов Ильнур Хясяинович (RU),
Правдивцева Ольга Евгеньевна (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 2695760 C1, 25.07.2019. Не все
экстракты одинаково полезны. 13.06.2018,
найдено в Интернет 16.06.2021, от 07.01.2019
[https://web.archive.org/web/20190107162559/
https://protein.company/blog/
ne_vse_ekstrakty_odinakovo_polezny/](https://web.archive.org/web/20190107162559/https://protein.company/blog/ne_vse_ekstrakty_odinakovo_polezny/).
Государственная Фармакопея Российской
Федерации. - Четырнадцатое издание. - М.:
Министерство здравоохранения РФ, 2018,
(см. прод.)

(54) Способ получения лекарственного средства "Боярышника плодов настойка"

(57) Реферат:

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности, а именно к способу получения настойки из плодов боярышника мягковатого. Способ получения настойки из плодов боярышника мягковатого, характеризующийся тем, что высушенные плоды боярышника мягковатого или высушенный жом плодов боярышника мягковатого измельчают и помещают в колбу в количестве 10 г, затем прибавляют 7 мл спирта этилового 70% для проведения мацерации, на следующий день в ту же колбу прибавляют 20 мл спирта этилового 70%, через сутки сливают 20 мл полученного извлечения и к остатку в колбе вновь добавляют

20 мл спирта этилового 70%, через сутки сливают 20 мл извлечения из плодов, объединив его с первой порцией, к остатку в колбе снова добавляют 10 мл спирта этилового 70%, через сутки настаивания снова сливают 10 мл извлечения, объединив его с первыми двумя порциями, полученное извлечение отстаивают в холодильнике в течение 3 суток, после чего тщательно профильтровывают. Настойка, полученная вышеописанным способом, характеризуется высоким содержанием суммы флавоноидов в пересчете на катехин, превышающим в четыре раза содержание в промышленном образце препарата. 1 табл., 1 пр.

RU 2 7 7 2 2 0 8 C 1

RU 2 7 7 2 2 0 8 C 1

(56) (продолжение):

том IV, с.6680-6681/ URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. ВУ 5642 С1, 30.12.2003. RU 2710261 С1, 25.12.2019.
КУРКИН В.А. и др. Разработка подходов к стандартизации свежих плодов боярышника полумягкого // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 2020, т.23, N3.

R U 2 7 7 2 2 0 8 C 1

R U 2 7 7 2 2 0 8 C 1

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY(19) **RU** (11) **2 772 208**⁽¹³⁾ **C1**(51) Int. Cl.
G01N 21/00 (2006.01)
A61K 36/734 (2006.01)
B01D 11/02 (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G01N 21/00 (2021.08); A61K 36/734 (2021.08); B01D 11/02 (2021.08)(21)(22) Application: **2021100661, 13.01.2021**(24) Effective date for property rights:
13.01.2021Registration date:
18.05.2022

Priority:

(22) Date of filing: **13.01.2021**(45) Date of publication: **18.05.2022 Bull. № 14**

Mail address:

**443099, g. Samara, ul. Chapaevskaya, 89,
Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Samarskij gosudarstvennyj
meditsinskij universitet" Ministerstva
zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii**

(72) Inventor(s):

**Kurkin Vladimir Aleksandrovich (RU),
Volkova Nadezhda Aleksandrovna (RU),
Shajkhutdinov Ilnur Khyasyainovich (RU),
Pravdivtseva Olga Evgenevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Samarskij gosudarstvennyj
meditsinskij universitet" Ministerstva
zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (RU)**(54) **METHOD OF PRODUCING HAWTHORN FRUIT TINCTURE MEDICINAL AGENT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; pharmaceuticals; chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to chemical-pharmaceutical industry, namely to a method for production of soft hawthorn fruit tincture. Method of producing soft haw fruit infusion, characterized by that dried soft haw fruits or dried soft haw fruits are milled and placed in a flask in amount of 10 g, then adding 7 ml of 70 % ethyl alcohol for maceration, the next day adding to same flask 20 ml of 70 % ethyl alcohol, pouring 20 ml of the obtained extract again and adding to the residue in flask 70 % ethyl alcohol 20 ml, in a day, 20 ml of the extract from the fruit is drained by

combining it with the first portion, 10 ml of 70 % ethyl alcohol is again added to the residue in the flask, after one day of infusion, 10 ml of the extract is again drained by combining it with the first two portions, the obtained extract is settled in refrigerator for 3 days, after which it is thoroughly filtered.

EFFECT: tincture obtained using the method described above is characterized by high content of total flavonoids in terms of catechin, which is four times higher than content in the industrial sample of the preparation.

1 cl, 1 tbl, 1 ex

RU 2 7 7 2 2 0 8 C 1

RU 2 7 7 2 2 0 8 C 1

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности и может быть использовано при производстве лекарственных препаратов из лекарственного растительного сырья.

5 Плоды растений различных видов рода Боярышник широко используются в отечественной и зарубежной медицине для производства кардиотонических препаратов (1, 2). Боярышник мягковатый (полумягкий) (*Crataegus submollis* Sarg.) широко культивируется в нашей стране как пищевое и декоративное растение, но к числу фармакопейных видов не относится. Однако именно боярышник мягковатый, на наш взгляд, является одним из самых перспективных видов для заготовки сырья (3). Плоды
10 боярышника мягковатого содержат богатый состав биологически активных соединений (фенилпропаноиды, сапонины, стерины, витамины и др.), среди которых, по нашим данным, доминируют восстановленные формы флавоноидов - производные катехина (4). Химический состав плодов боярышника мягковатого имеет черты сходства с плодами фармакопейных видов боярышника.

15 Сбор плодов боярышника мягковатого возможно начинать уже в период их технической спелости в начале сентября, когда они содержат мало влаги и легче высушиваются. Высушенные плоды боярышника мягковатого не уступают по содержанию действующих веществ плодам фармакопейных видов боярышника и могут, на наш взгляд, служить сырьем для получения препарата «Боярышника плодов
20 настойка» (4). Однако на стадии биологической спелости, когда плоды полностью созревают и наливаются соком, процесс высушивания весьма затруднителен. Выходом из ситуации является получение сока свежих плодов и высушивание жома (4).

Как показали наши исследования, сок, полученный на основе свежих плодов боярышника мягковатого, обладают диуретической активностью и антидепрессантным
25 действием (4). В высушенном жоме плодов имеет место высокое содержание флавоноидов, поэтому он может быть использован в качестве сырья для получения экстракционных препаратов, аналогично высушенным плодам (4).

В качестве прототипа нами был выбран популярный отечественный препарат «Боярышника плодов настойка», который широко выпускается на территории нашей
30 страны. Способ получения препарата включает экстракцию действующих веществ измельченных плодов боярышника этиловым спиртом 70% концентрации в соотношении «сырье - экстрагент» 1:10 (1). Качество полученного препарата оценивают по содержанию флавоноидов в пересчете на гиперозид методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 410 нм (1). Содержание флавоноидов в
35 «Боярышника плодов настойке» должно быть не менее 0,003%. Недостатком данного препарата является то обстоятельство, что применяемое соотношение сырья и экстрагента не позволяет получить лекарственное средство с высоким содержанием действующих веществ.

Как известно, действующая система контроля качества лекарственных препаратов
40 требует унифицированного подхода к стандартизации лекарственного растительного сырья и средств на его основе, позволяющих объективно и селективно определять содержание целевых веществ (1). При этом метод количественного анализа существующего препарата «Боярышника плодов настойка» направлен на оценивание окисленных форм флавоноидов, которые в высушенных плодах боярышника
45 присутствуют в незначительном количестве, а в свежих практически не обнаруживаются (4). Ранее нами был разработан способ количественного анализа суммы флавоноидов в пересчете на катехин в свежих и высушенных плодах боярышника мягковатого, а также в высушенных плодах боярышника кроваво-красного, основанный на прямой

RU 2 772 208 C1

спектрофотометрии при длине волны 282 нм (4, 5).

Таким образом, целью изобретения является разработка способа получения лекарственного препарата на основе нового вида лекарственного растительного сырья -высушенных плодов боярышника мягковатого либо высушенного жома плодов боярышника мягковатого.

Цель достигается тем, что в качестве сырья используют высушенные плоды боярышника мягковатого, не подвергавшиеся прессованию либо высушенный жом плодов боярышника мягковатого, после отжима сока; экстракцию осуществляют в соотношении «сырье-экстрагент» - 1:5; оценку качества полученного лекарственного средства проводят путем определения содержания в нем суммы восстановленных форм флавоноидов (X, %) в пересчете на катехин по формуле.

$$D \times 25 \times 25$$

$$X = \frac{\quad}{\quad},$$

$$144 \times 1 \times 5$$

где:

D - оптическая плотность испытуемого раствора;

144 - удельный показатель поглощения стандартного образца катехина при 282 нм

Выбранное нами соотношение для сырья и экстрагента 1:5 применяется при производстве настоек в большинстве случаев и, как установлено нами опытным путем, является оптимальным и для получения настойки боярышника. Как показали исследования, проведенные нами ранее, высушенные плоды и жом плодов боярышника мягковатого содержат большое количество восстановленных форм флавоноидов (4). Поэтому расчет действующих веществ в препарате целесообразнее вести в пересчете на катехин с использованием прямой спектрофотометрии, а не на гиперозид (применяя дифференциальную спектрофотометрию) (4). При этом расчет содержания суммы флавоноидов в пересчете на катехин следует вести пользуясь формулой, полученной нами на основании проведенной работы.

$$D \times 25 \times 25$$

$$X = \frac{\quad}{\quad},$$

$$144 \times 1 \times 5$$

где:

D - оптическая плотность испытуемого раствора;

144 - удельный показатель поглощения стандартного образца катехина при 282 нм
Способ реализуется следующим образом.

Из измельченных высушенных плодов боярышника мягковатого либо высушенного измельченного жома плодов боярышника мягковатого получают настойку в соотношении «сырье-экстрагент» - 1:5. В качестве экстрагента используется 70% этиловый спирт.

Количественное определение суммы восстановленных форм флавоноидов в полученной настойке проводят при длине волны 282 нм в пересчете на катехин. Для этого 1 мл настойки помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят спиртом этиловым 70% концентрации до метки и перемешивают (Раствор А). 5 мл полученного раствора А помещают в мерную колбу на 25 мл и также доводят до метки спиртом этиловым 70% концентрации (Раствор Б). После перемешивания у раствора Б измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 282 нм. Раствором сравнения служит 70% спирт этиловый. Содержание суммы флавоноидов (X, %) в препарате в пересчете

RU 2 772 208 C1

на катехин и абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$D \times 25 \times 25$$

$$X = \frac{\text{-----}}{\text{-----}},$$

$$5 \quad 144 \times 1 \times 5$$

где:

D - оптическая плотность испытуемого раствора (раствора Б);

144 - удельный показатель поглощения стандартного образца катехина при 282 нм

Для проведения эксперимента в качестве сырья был использован высушенный жом, оставшийся после отжима сока из свежих плодов. Также был взят образец высушенных плодов той же партии, которые не подвергались прессованию. Обе настойки получали методом модифицированной мацерации с помощью 70% этилового спирта в одинаковых условиях в одно и то же время. Соотношение «сырье-экстрагент» было выбрано 1:5.

В качестве образца сравнения был использован промышленный образец настойки плодов боярышника. Во всех препаратах определялось содержание суммы восстановленных форм флавоноидов в пересчете на катехин (прямая спектрофотометрия) и содержание суммы окисленных флавоноидов в пересчете на гиперозид (дифференциальная спектрофотометрия).

Как можно заметить из таблицы 1 (приложение 1), содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин в настойке на основе высушенного жома плодов боярышника мягковатого выше, чем у препарата, полученного промышленным способом, и препарата, полученного на основе высушенных плодов, не подвергшихся прессованию. Причем содержание суммы флавоноидов выше и по восстановленным и по окисленным формам флавоноидов.

25 Пример 1. Получение препарата из высушенных плодов боярышника мягковатого не подвергавшихся прессованию

Высушенные плоды боярышника мягковатого измельчили и поместили в колбу в количестве 10 г затем прибавили 7 мл спирта этилового 70% для проведения мацерации. На следующий день в ту же колбу прибавили 20 мл спирта этилового 70%. Через сутки слили 20 мл полученного извлечения и к остатку в колбе вновь добавили 20 мл спирта этилового 70%. Через сутки слили 20 мл извлечения из плодов, объединив его с первой порцией. К остатку в колбе снова добавили 10 мл спирта этилового 70%. Через сутки настаивания снова слили 10 мл извлечения, объединив его с первыми двумя порциями. Полученное извлечение в количестве 50 мл отстаивали в холодильнике в течение 3

35 суток, после чего тщательно профильтровали во флакон темного стекла для хранения. 1 мл полученного препарата поместили в мерную колбу на 25 мл и довели спиртом этиловым 70% до метки и перемешали (раствор А). Далее взяли 5 мл раствора А и поместили в мерную колбу на 25 мл. Довели спиртом этиловым 70% до метки и перемешали (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б, измеренная на спектрофотометре при длине волны 282 нм составила 0,4377.

$$0,4377 \times 25 \times 25$$

$$X = \frac{\text{-----}}{\text{-----}},$$

$$144 \times 1 \times 5$$

45 Содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин в полученной настойке составило 0,38%.

Пример 2. Получение препарата из высушенного жома плодов боярышника мягковатого

Высушенный жом плодов боярышника мягковатого измельчили и поместили в колбу в количестве 10 г затем прибавили 7 мл спирта этилового 70% для проведения мацерации. На следующий день в ту же колбу прибавили 20 мл спирта этилового 70%. Через сутки слили 20 мл полученного извлечения и к остатку в колбе вновь добавили 20 мл спирта этилового 70%. Через сутки слили 20 мл извлечения, объединив его с первой порцией. К остатку в колбе снова добавили 10 мл спирта этилового 70%. Через сутки настаивания снова слили 10 мл извлечения, объединив его с первыми двумя порциями. Полученное извлечение в количестве 50 мл отстаивали в холодильнике в течение 3 суток, после чего тщательно профильтровали во флакон темного стекла для хранения.

1 мл полученного препарата поместили в мерную колбу на 25 мл и довели спиртом этиловым (70%) до метки и перемешали (раствор А). Далее взяли 5 мл раствора А и поместили в мерную колбу на 25 мл. Довели спиртом этиловым 10% до метки и перемешали (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б, измеренная на спектрофотометре при длине волны 282 нм составила 0,4608.

$$X = \frac{0,4608 \times 25 \times 25}{144 \times 1 \times 5},$$

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин в полученной настойке составило 0,40%.

Таким образом, предлагаемый способ получения и количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на катехин с использованием прямой спектрофотометрии разработан впервые для высушенных плодов и жома плодов боярышника мягковатого и обладает следующими преимуществами:

1. Используемый способ получения настойки на основе высушенных плодов боярышника мягковатого и высушенного жома плодов боярышника мягковатого позволяет получить препарат, превышающий в четыре раза по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на катехин образец, выпускаемый промышленностью в настоящее время.

2. Разработанный метод количественного анализа является более специфичным и селективным, так как он позволяет определять целевые вещества плодов боярышника -восстановленные формы флавоноидов в пересчете на катехин.

3. Для плодов боярышника мягковатого, как нового источника лекарственных средств, возможна комплексная переработка сырья с получением экстракционных препаратов на основе высушенного жома свежих плодов.

Разработанный способ целесообразно применять на фармацевтических предприятиях и центрах контроля качества лекарственных средств, а также в контрольно-аналитических лабораториях при проведении количественного анализа препаратов плодов боярышника мягковатого (*Crataegus submollis* Sarg.).

ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ:

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации. - Четырнадцатое издание. - М.: Министерство здравоохранения РФ, 2018. / URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>

2. Куркин В.А. Фармакогнозия. Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). - 3-е изд., перераб. и доп. - Самара: ООО «Офорг»; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2016. - 1279 с.

3. Деревья и кустарники СССР II Т. 3, Издание Академии наук СССР Москва-Ленинград, 1954. 872 с.

4. Куркин В.А., Правдивцева О.Е., Шайхутдинов И.Х., Куркина А.В., Зайцева Е.Н.,

RU 2 772 208 C1

Волкова Н.А. Виды рода боярышник (*Crataegus* L.): стандартизация и создание лекарственных препаратов: Монография. - Самара: ООО «Офорт», 2020. - 118 с.

- 5 Куркин В.А., Шайхутдинов И.Х., Правдивцева О.Е., Авдеева Е.В., Куркина А.В., Стеняева В.В., Варина Н.Р., Жданова А.В. Разработка подходов к стандартизации свежих плодов боярышника полумягкого // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2020. - Т. 23, №3. - С. 37-42.

Приложение 1

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА «БОЯРЫШНИКА ПЛОДОВ НАСТОЙКА»

10

Таблица 1

№ п/п	Объект анализа	Содержание флавоноидов в настойке, % (на катехин)	Содержание флавоноидов в настойке, % (гиперозид)
15 1.	Настойка на основе высушенных плодов боярышника мягковатого (соотношение 1:5)	0,38%	0,005%
20 2.	Настойка на основе высушенного жома плодов боярышника мягковатого (соотношение 1:5)	0,40%	0,005%
25 3.	Промышленный образец ОАО «Флора Кавказа» (соотношение 1:10)	0,10%	0,003%

25

(57) Формула изобретения

Способ получения настойки из плодов боярышника мягковатого, характеризующийся тем, что высушенные плоды боярышника мягковатого или высушенный жом плодов боярышника мягковатого измельчают и помещают в колбу в количестве 10 г, затем прибавляют 7 мл спирта этилового 70% для проведения мацерации, на следующий день в ту же колбу прибавляют 20 мл спирта этилового 70%, через сутки сливают 20 мл полученного извлечения и к остатку в колбе вновь добавляют 20 мл спирта этилового 70%, через сутки сливают 20 мл извлечения из плодов, объединив его с первой порцией, к остатку в колбе снова добавляют 10 мл спирта этилового 70%, через сутки настаивания снова сливают 10 мл извлечения, объединив его с первыми двумя порциями, полученное извлечение отстаивают в холодильнике в течение 3 суток, после чего тщательно профильтровывают.

40

45

**Приложение 3. Проект фармакопейной статьи на новый вид ЛРП
«Боярышника мягковатого побегов экстракт густой»**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

УТВЕРЖДАЮ

Директор Центра фармакопеи и
международного сотрудничества
ФГБУ «Научный центр экспертизы средств
медицинского применения», доктор
фармацевтических наук, профессор

Е.И. САКАНЯН

«__» _____ 20__ г.

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА**

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

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

Боярышника мягковатого побегов
экстракт густой
*Crataegi submollis cormus extractum
spissum*

ФС.2.5. .
Вводится впервые

Срок введения установлен
с «__» _____ 20__ г.
до «__» _____ 20__ г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Боярышника экстракт густой, получаемый из побегов культивируемого древесного растения боярышника мягковатого (полумягкого) – *Crataegus submollis* Sarg., сем. розоцветные – *Rosaceae*, экстракцией спиртом этиловым 70% при соотношении сырье : экстрагент (1:1), применяемый для производства лекарственных препаратов.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

Описание. Густая масса коричнево-зеленого цвета со специфичным запахом.

Подлинность.

1. Качественные реакции

Цинковую таблетку помещают в толстостенную пробирку и прибавляют 0,5 мл концентрированной соляной кислоты. После чего к реагирующей смеси осторожно прибавляют 0,5 мл раствора А (см. Количественное определение). В течение 5 минут наблюдается изменение окраски раствора с желтовато-зеленой на розово-красную (флавоноиды).

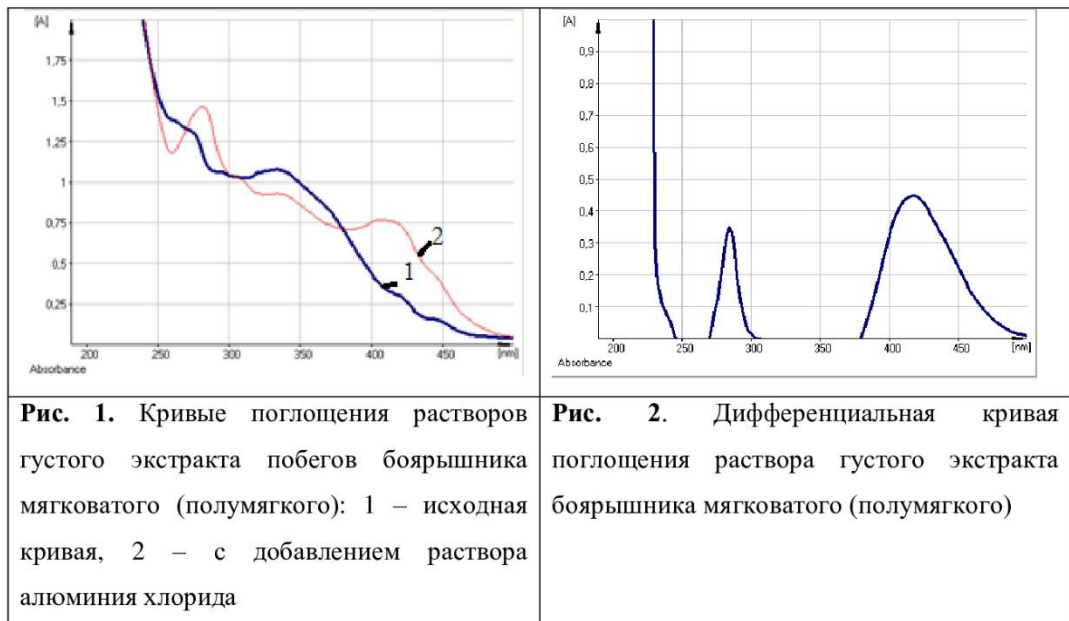
2. Тонкослойная хроматография

Исследуемый раствор наносили на предварительно активированные хроматографические пластинки «Сорбфил-ПТСХ-АФ-Ф-УФ» или «Сорбфил-ПТСХ-П-А-УФ». На линию старта пластинки микропипеткой наносили 0,03 мл раствора А (см. Количественное определение). В качестве вещества-свидетеля наносят аналогичное количество спиртового раствора СО гиперозида. Для разделения используют систему растворителей *хлороформ – спирт этиловый – вода* (26:16:3). Хроматографируют восходящим способом до прохождения фронтом растворителя около 7-8 см, после чего пластинку достают и высушивают. Хроматограмму оценивают визуально при дневном свете, после чего обрабатывают 3% спиртовым раствором алюминия хлорида и снова высушивают. Затем просматривают в УФ-свете при длинах волн 366 нм. На полученной хроматограмме обнаруживаются зоны веществ с голубой флуоресценцией с величиной R_f около 0,5 (гиперозид).

Приготовление раствора стандартного образца гиперозида: Около 0,01 г гиперозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл 70% этиловом спирте при нагревании на водяной бане. Затем содержимое колбы остужают до комнатной температуры и доводят 70% этиловым спиртом до метки.

2. УФ-спектроскопия

Испытуемый раствор, приготовленный как указано в разделе «Количественное определение», имеет максимум дифференциальной кривой поглощения при длине волны 412 ± 2 нм (рис. 1, 2).



Потеря в массе при высушивании. Не менее 25%. В соответствии с требованиями ОФС «Потеря в массе при высушивании».

Тяжелые металлы. Не более 0,01%. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

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

Количественное определение. Суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид не менее 2,0 %.

Сумма флавоноидов. 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.

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

Проректор по научной работе ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, лауреат премии Правительства
РФ, доктор медицинских наук, профессор

И.Л. Давыдкин

«1» августа 2022

Заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой
и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, доктор фармацевтических наук,
профессор

В.А. Куркин

«1» августа 2022

Профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и
основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, доктор фармацевтических наук,
доцент

О.Е. Правдивцева

«1» августа 2022

Очный аспирант кафедры фармакогнозии с
ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО
СамГМУ Минздрава России

Н.А. Волкова

«1» августа 2022

**Приложение 4. Проект фармакопейной статьи на новый вид ЛРП
«Боярышника кроваво-красного побегов экстракт густой»**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

УТВЕРЖДАЮ

Директор Центра фармакопеи и
международного сотрудничества
ФГБУ «Научный центр экспертизы средств
медицинского применения», доктор
фармацевтических наук, профессор

Е.И. САКАНЯН

«__» _____ 20__ г.

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА**

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

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

Боярышника кроваво-красного побегов экстракт густой <i>Crataegi sanguineae cormus extractum spissum</i>	ФС.2.5. . Вводится впервые
---	-------------------------------

Срок введения установлен
с «__» _____ 20__ г.
до «__» _____ 20__ г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Боярышника экстракт густой, получаемый из побегов культивируемого или дикорастущего древесного растения боярышника кроваво-красного – *Crataegus sanguinea* Pall., сем. розоцветные – *Rosaceae*, экстракцией спиртом этиловым 70% при соотношении сырье : экстрагент (1:1), применяемый для производства лекарственных препаратов.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

Описание. Густая масса коричнево-зеленого цвета со специфичным запахом.

Подлинность.

1. Качественные реакции

Цинковую таблетку помещают в толстостенную пробирку и прибавляют 0,5 мл концентрированной соляной кислоты. После чего к реагирующей смеси осторожно прибавляют 0,5 мл раствора А (см. Количественное определение). В течение 5 минут наблюдается изменение окраски раствора с желтовато-зеленой на розово-красную (флавоноиды).

2. Тонкослойная хроматография

Исследуемый раствор наносили на предварительно активированные хроматографические пластинки «Сорбфил-ПТСХ-АФ-Ф-УФ» или «Сорбфил-ПТСХ-П-А-УФ». На линию старта пластинки микропипеткой наносили 0,03 мл раствора А (см. Количественное определение). В качестве вещества-свидетеля наносят аналогичное количество спиртового раствора СО гиперозида. Для разделения используют систему растворителей *хлороформ – спирт этиловый – вода* (26:16:3). Хроматографируют восходящим способом до прохождения фронтом растворителя около 7-8 см, после чего пластинку достают и высушивают. Хроматограмму оценивают визуально при дневном свете, после чего обрабатывают 3% спиртовым раствором алюминия хлорида и снова высушивают. Затем просматривают в УФ-свете при длинах волн 366 нм. На полученной хроматограмме обнаруживаются зоны веществ с голубой флюоресценцией с величиной R_f около 0,5 (гиперозид) и R_f около 0,6 (2¹¹-О-рамнозид витексина). Допускается наличие других пятен меньшей интенсивности свечения. Величина коэффициента R_{st} (отношение коэффициента удерживания 2¹¹-О-рамнозид витексина к коэффициенту удерживания гиперозида) должно лежать в пределах 1,2 -1,4.

Приготовление раствора стандартного образца гиперозида: Около 0,01 г гиперозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл 70% этиловом спирте при нагревании на водяной бане. Затем содержимое колбы остужают до комнатной температуры и доводят 70% этиловым спиртом до метки.

2. УФ-спектроскопия

Испытуемый раствор, приготовленный как указано в разделе «Количественное определение», имеет максимум дифференциальной кривой поглощения при длине волны 392 ± 2 нм (рис. 1, 2).

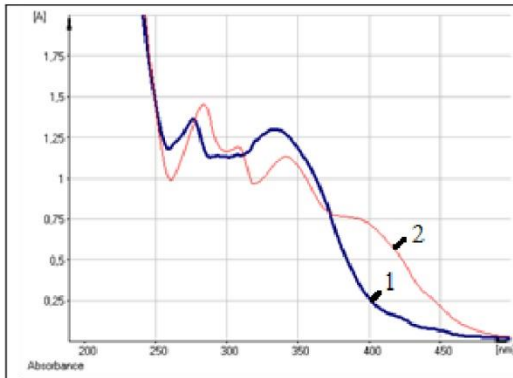


Рис. 1. Кривые поглощения растворов густого экстракта побегов боярышника кроваво-красного: 1 – исходная кривая, 2 – с добавлением раствора алюминия хлорида

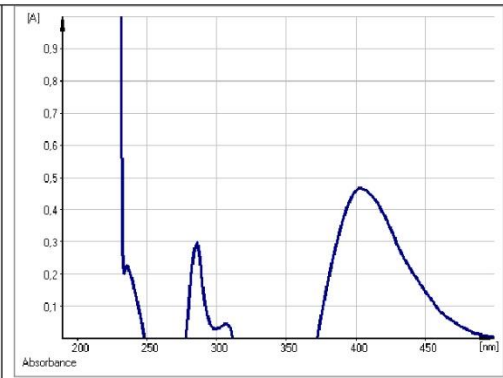


Рис. 2. Дифференциальная кривая поглощения раствора густого экстракта боярышника кроваво-красного

Потеря в массе при высушивании. Не менее 25%. В соответствии с требованиями ОФС «Потеря в массе при высушивании».

Тяжелые металлы. Не более 0,01%. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

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

Количественное определение. Суммы флавоноидов в пересчете на 2^п-О-рамнозид витексина не менее 3,0 %.

Сумма флавоноидов. 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 2^п-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^п-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^п-О-рамнозид витексина;

m – масса густого экстракта, в граммах.

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

Проректор по научной работе ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, лауреат премии Правительства
РФ, доктор медицинских наук, профессор



И.Л. Давыдкин

« 1 » августа 2022

Заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой
и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, доктор фармацевтических наук,
профессор

 В.А. Куркин

« 01 » августа 2022

Профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и
основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, доктор фармацевтических наук,
доцент



О.Е. Правдивцева

« 1 » августа 2022

Очный аспирант кафедры фармакогнозии с
ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО
СамГМУ Минздрава России



Н.А. Волкова

« 1 » августа 2022

Собранные в мае в фазу цветения и высушенные побеги текущего года культивируемого кустарника боярышника (мягковатого) полумягкого – *Crataegus submollis* Sarg., сем. розоцветные – *Rosaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. Сырье изучается невооруженным глазом, с помощью лупы (x10) в соответствии с разделом «Методы анализа лекарственного растительного сырья» (ГФ РФ XIV издания).

Цельное сырье. Смесь неодревесневших побегов, отдельных листьев, цветков и бутонов. Запах специфический. Вкус водного извлечения слабо-горьковатый.

Листья яйцевидные тонкие опушенные насыщенно зеленые листья. Основание листьев усеченное и ширококлиновидное, листья на конце заостренные, по краю зубчатые или двоякозубчатые на длинных черешках. Прилистники серповидные с коричневыми железками по краю.

Цветки боярышника мягковатого собраны в щитковидное соцветие с 10-15 войлочно-опушенных цветками. Цветки расположены на тонких цветоножках, лепестки белого цвета, тычинки в количестве 10-ти имеют желтоватые пыльники, столбиков от 3-х до 5-ти. Запах цветков специфический.

Измельченное сырье. Смесь кусочков листьев, частей цветков, бутонов и кусочков стеблей.

Микроскопические признаки. *Цельное сырье.* Сырье исследуется с помощью микроскопа (10х, 40х, 100х) в соответствии с разделом «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья» (ГФ РФ XIV издания).

Цельное сырье.

При рассмотрении верхнего эпидермиса листовых пластинок должны быть видны многоугольные клетки со слабоизвилистой клеточной стенкой и четковидными утолщениями. Эпидермис нижней стороны состоит из клеток с сильноизвилистыми стенками, также там встречаются многочисленные устьица. На обеих сторонах листа и черешке в большом количестве встречаются простые тонкостенные волоски. По краю листа просматриваются железки. На поперечном срезе черешка листа обнаруживается закрытый коллатеральный пучок в форме полумесяца. Прилистники по краям имеют многоклеточные железки с коричневым содержимым и многочисленные волоски.

Стебель покрыт простыми волосками, поперечном срезе под слоем эпидермиса, заметен слой уголковой колленхимы. В основной паренхиме легко заметны открытые коллатеральные пучки, расположенные в центре органа по кругу. Пучки армированы с двух сторон слоем склеренхимы.

Эпидермис внутренней стороны лепестков имеет сосочковидные выросты. На чашелистиках имеются многочисленные простые одноклеточные волоски и коричневые железки. Цветоножки на поперечном срезе имеют черты сходства со стеблями, также густо опушены. Под слоем эпидермиса, покрытым кутикулой обнаруживается слой колленхимы и слой основной паренхимы. Проводящая система представлена открытыми проводящими пучками, расположенными в центре. Эпидермис прицветника состоит из вытянутых клеток по краям которого расположены железки.

Во всех частях сырья имеются друзы. На препаратах заметны пыльцевые зерна.

Измельченное сырье.

При рассмотрении препаратов видны фрагменты листьев, стеблей, и цветков, отдельные простые волоски и пыльцевые зерна. На эпидермисе листьев

и фрагментов черешков встречаются обломанные волоски или же основания волосков.

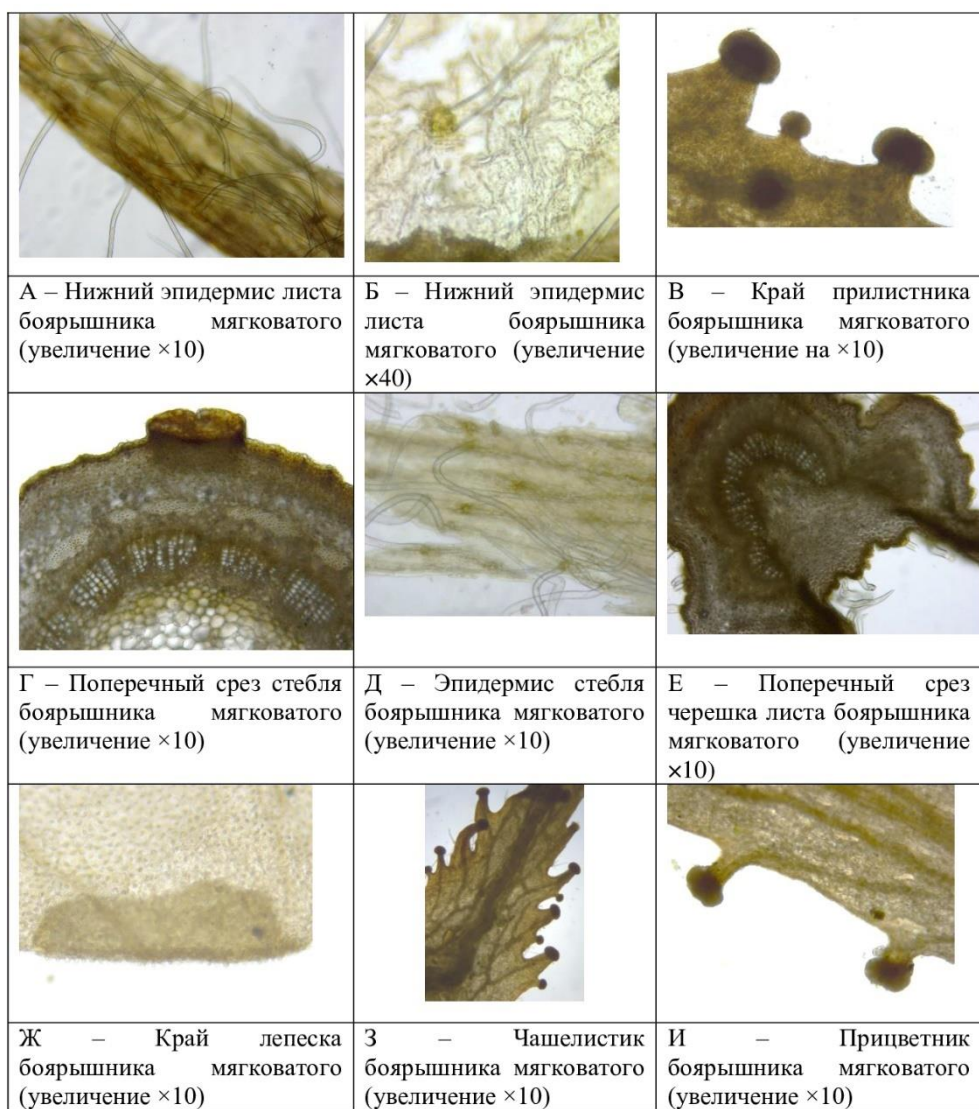


Рис. 1. Микроскопические признаки побегов боярышника мягковатого

Определение основных групп биологически активных веществ:

1. Качественные реакции

1. Цинковую таблетку помещают в толстостенную пробирку и прибавляют 0,5 мл концентрированной соляной кислоты. После чего к реагирующей смеси осторожно прибавляют 0,5 мл извлечения из сырья (см. Количественное определение). В течение 5 минут наблюдается изменение окраски раствора с желтовато-зеленой на розово-красную (флавоноиды).

2. УФ-спектроскопия

Испытуемый раствор, приготовленный как указано в разделе «Количественное определение» имеет максимум для дифференциальной кривой поглощения при длине волны 412 ± 2 нм (рис. 2, 3).

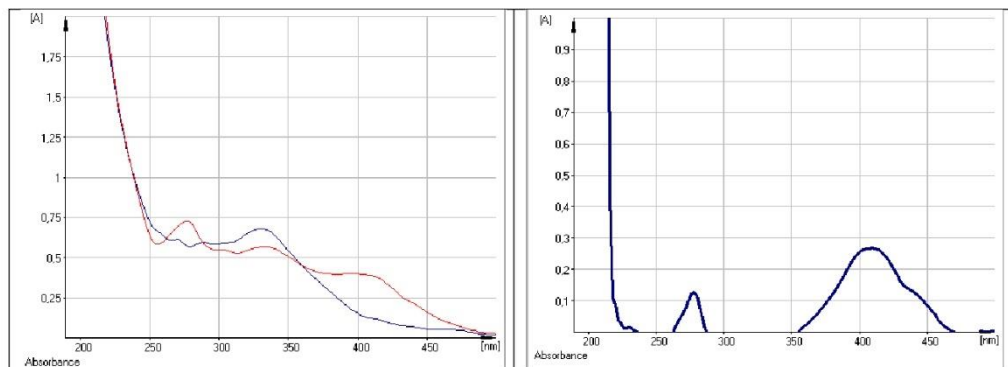


Рис. 2. Кривая поглощения раствора водно-спиртового извлечения из побегов боярышника мягковатого (полумягкого): 1 – исходный раствор; 2 – в присутствии AlCl₃

Рис. 3. Дифференциальная кривая поглощения раствора водно-спиртового извлечения из побегов боярышника мягковатого (полумягкого)

3. Тонкослойная хроматография

Извлечение наносили на предварительно активированные хроматографические пластинки «Сорбфил-ПТСХ-АФ-Ф-УФ» или «Сорбфил-ПТСХ-П-А-УФ». На линию старта пластинки микропипеткой наносили 0,03 мл

извлечения (см. Количественное определение). В качестве вещества-свидетеля наносят аналогичное количество спиртового раствора СО гиперозида. Для разделения используют систему растворителей *хлороформ – спирт этиловый – вода* (26:16:3). Хроматографируют восходящим способом до прохождения фронтом растворителя около 7-8 см, после чего пластинку достают и высушивают. Хроматограмму оценивают визуально при дневном свете, после чего обрабатывают 3% спиртовым раствором алюминия хлорида и снова высушивают. Затем просматривают в УФ-свете при длинах волн 366 нм. На полученной хроматограмме в исследуемом образце обнаруживаются пятно желтого цвета с R_f около 0,5 на уровне пятна, соответствующему гиперозиду.

Приготовление раствора стандартного образца гиперозида: Около 0,01 г гиперозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 70% этиловом спирте при нагревании на водяной бане. Затем содержимое колбы остужают до комнатной температуры и доводят 70% этиловым спиртом до метки.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 14%.

Зола общая. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 12%.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 3 %.

Измельченность сырья. *Цельное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, – не более 5%. *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито размером 7 мм, – не более 5% частиц, проходящих сквозь сито с отверстием размером 0,18 мм, – не более 5%.

Посторонние примеси.

Кусочки одревесневших стеблей. Цельное сырье – не более 2%.

Частей сырья, утративших естественную окраску. Цельное сырье – не более 2 %.

Органическая примесь. Цельное сырье – не более 1%.

Минеральная примесь. Цельное 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» (ГФ РФ XIV издания).

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (ГФ РФ XIV издания).

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (ГФ РФ XIV издания).

Микробиологическая чистота. В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота» (ГФ РФ XIV издания).

Количественное определение. *Цельное сырье, измельченное сырье:* суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид не менее 2,0 %.

Сумма флавоноидов.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера 3 мм. Около 0,5 г сырья (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарирных весах с точностью до +0,01. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 минут. Затем колбу охлаждают в течение 30 минут при комнатной температуре, закрывают той же пробкой,

ФС _____ с. 8

снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через рыхлый комочек ваты или фильтр с красной полосой (извлечение из листьев). Испытуемый раствор для анализа флавоноидов 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 70% этиловым спиртом (испытуемый раствор А). Раствор сравнения готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу на 25 мл, доводят объем раствора до метки 70% этиловым спиртом (раствор сравнения А).

Измерение оптической плотности проводят при длине волны 412 нм через 40 минут после приготовления всех растворов. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times 50 \times 25 \times 100}{330 \times m \times 1 \times (100 - W)}$$

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

330 – удельный показатель поглощения гиперозида;

m – масса сырья, в граммах;

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» (ГФ РФ XIV издания).

ФС _____ с. 9

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

Проректор по научной работе ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, лауреат премии Правительства
РФ, доктор медицинских наук, профессор

И.Л. Давыдкин

« 2 » сентября 2022

Заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой
и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, доктор фармацевтических наук,
профессор

В.А. Куркин

« 7 » сентября 2022

Профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и
основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, доктор фармацевтических наук,
доцент

О.Е. Правдивцева

« 05 » сентября 2022

Очный аспирант кафедры фармакогнозии с
ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО
СамГМУ Минздрава России

Н.А. Волкова

« 2 » сентября 2022

**Приложение 6. Проект фармакопейной статьи на новый вид ЛРС
«Боярышника кроваво-красного побегов»**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

УТВЕРЖДАЮ

Директор Центра фармакопеи и
международного сотрудничества
ФГБУ «Научный центр экспертизы средств
медицинского применения», доктор
фармацевтических наук, профессор

Е.И. САКАНЯН

«__» _____ 20__ г.

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА**

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

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

Боярышника кроваво-красного побегов <i>Crataegi sanguineae cormi</i>	ФС.2.5. . Вводится впервые
	Срок введения установлен с «__» _____ 20__ г. до «__» _____ 20__ г.

Собранные в фазу цветения и высушенные неодревесневшие побеги дикорастущего или культивируемого древесного растения боярышник кроваво-красный – *Crataegus sanguinea* Pall., сем. розоцветные – *Rosaceae*

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

Собранные в мае в фазу цветения и высушенные побеги текущего года дикорастущего или культивируемого кустарника боярышника кроваво-красного – *Crataegus sanguinea* Pall., сем. розоцветные – *Rosaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. Сырье изучается невооруженным глазом, с помощью лупы (x10) в соответствии с разделом «Методы анализа лекарственного растительного сырья» (ГФ РФ XIV издания).

Цельное сырье. Смесь неодревесневших побегов, отдельных листьев, цветков и бутонов. Запах специфический. Вкус водного извлечения слабогорьковатый.

Листья обратнойцевидные в очертании 3-7 – неглубоколопастные, с пильчатым краем, негустоопушенные. Листовые пластинки имеют 2-6 см в длину и 2,5-5 см в ширину, сверху имеют более темнозеленую окраску, чем снизу. Листья очередные на черешках. Черешки опушены сверху и имеют 2,5-3 см в длину. Прилистники серповидные с оттянутыми железками. Стебли голые, зеленого цвета со светлыми пятнами, слегка ребристые, длиной до 3 см.

Цветки собраны в щитковидные густые соцветия. Цветки пятичленные с чашечкой и венчиком и прицветниками. Лепестки белого цвета, 20 тычинок, столбиков – 3-4. Присутствуют нераспустившиеся бутоны.

Измельченное сырье. Смесь кусочков листьев, частей цветков, бутонов и кусочков стеблей.

Микроскопические признаки. *Цельное сырье.* Сырье исследуется с помощью микроскопа (10x, 40x, 100x) в соответствии с разделом «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья» (ГФ РФ XIV издания).

Цельное сырье.

При рассмотрении листовых пластинок верхнего эпидермиса должны быть видны многоугольные клетки со слабоизвилистой клеточной стенкой и четковидными утолщениями. Эпидермис нижней стороны состоит из клеток с сильноизвилистыми стенками, также там встречаются многочисленные устьица. На обеих сторонах листа и черешке встречаются простые тонкостенные волоски, окруженные розеткой, приподнятой над эпидермисом. На поперечном срезе черешка листа обнаруживается закрытый коллатеральный пучок в форме полумесяца. Прилистники по краям имеют многоклеточные железки с коричневым содержимым. У основания прилистника железки расположены на оттянутых иногда изогнутых многоклеточных ножках.

Стебель покрыт простыми волосками, поперечном срезе слоем эпидермиса, заметен слой уголковой колленхимы. В основной паренхиме легко заметны открытые коллатеральные пучки, расположенные в центре органа по кругу. Пучки армированы с двух сторон слоем склеренхимы.

Эпидермис внутренней стороны лепестков имеет сосочковидные выросты. На чашелистиках встречаются многочисленные простые одноклеточные волоски. Цветоножка на поперечном срезе имеет черты сходства со стеблем. Под слоем эпидермиса, покрытым кутикулой, обнаруживается слой колленхимы и слой основной паренхимы. Проводящая система представлена открытыми проводящими пучками, расположенными в центре. Прицветники состоят из вытянутых клеток по краям которого расположены железки. По краю основания прицветника железки расположены на оттянутых иногда изогнутых многоклеточных ножках, в апикальной части железки сидячие.

Во всех частях сырья имеются друзы. На препаратах заметны пыльцевые зерна.

Измельченное сырье.

При рассмотрении препаратов видны фрагменты листьев, стеблей, и цветков, отдельные простые волоски и пыльцевые зерна. На эпидермисе листьев

и фрагментов черешков встречаются обломанные волоски или же основания волосков.

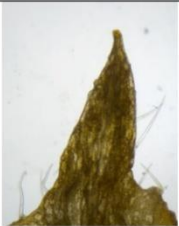
		
А – Нижний эпидермис листа боярышника кроваво-красного (увеличение $\times 10$)	Б – Нижний эпидермис листа боярышника кроваво-красного (увеличение $\times 40$)	В – Край прилистника боярышника кроваво-красного (увеличение на $\times 10$)
		
Г – Поперечный срез стебля боярышника кроваво-красного (окраска сернокислым анилином, увеличение $\times 10$)	Д – Эпидермис стебля боярышника кроваво-красного (увеличение $\times 10$)	Е – Поперечный срез цветоножки боярышника кроваво-красного (увеличение $\times 10$)
		
Ж – Край лепеска боярышника кроваво-красного (увеличение $\times 10$)	З – Чашелистик боярышника кроваво-красного (увеличение $\times 10$)	И – Прицветник боярышника кроваво-красного (увеличение $\times 10$)

Рис. 1. Микроскопические признаки побегов боярышника кроваво-красного

Определение основных групп биологически активных веществ:

1. Качественные реакции

1. Цинковую таблетку помещают в толстостенную пробирку и прибавляют 0,5 мл концентрированной соляной кислоты. После чего к реагирующей смеси осторожно прибавляют 0,5 мл извлечения из сырья (см. Количественное определение). В течение 5 минут наблюдается изменение окраски раствора с желтовато-зеленой на розово-красную (флавоноиды).

2. УФ-спектроскопия

Испытуемый раствор, приготовленный как указано в разделе «Количественное определение» имеет максимум для дифференциальной кривой поглощения при длине волны 392 ± 2 нм (рис. 2, 3).

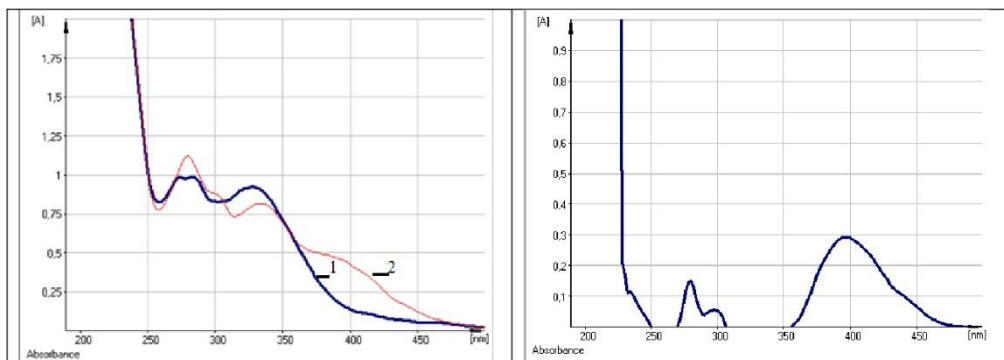


Рис. 2. Кривая поглощения раствора водно-спиртового извлечения из побегов боярышника кроваво-красного: 1 – исходный раствор; 2 – в присутствии $AlCl_3$

Рис. 3. Дифференциальная кривая поглощения раствора водно-спиртового извлечения из побегов боярышника кроваво-красного

3. Тонкослойная хроматография

Извлечение наносили на предварительно активированные хроматографические пластинки «Сорбфил-ПТСХ-АФ-Ф-УФ» или «Сорбфил-ПТСХ-П-А-УФ». На линию старта пластинки микропипеткой наносили 0,03 мл

извлечения (см. Количественное определение). В качестве вещества-свидетеля наносят аналогичное количество спиртового раствора СО гиперозида. Для разделения используют систему растворителей *хлороформ – спирт этиловый – вода* (26:16:3). Хроматографируют восходящим способом до прохождения фронтом растворителя около 7-8 см, после чего пластинку достают и высушивают. Хроматограмму оценивают визуально при дневном свете, после чего обрабатывают 3% спиртовым раствором алюминия хлорида и снова высушивают. Затем просматривают в УФ-свете при длинах волн 366 нм. На полученной хроматограмме обнаруживаются зоны веществ с голубой флюоресценцией с величиной R_f около 0,5 (гиперозид) и R_f около 0,6 (2¹¹-О-рамнозид витексина). Допускается наличие других пятен меньшей интенсивности свечения. Величина коэффициента R_{st} (отношение коэффициента удерживания 2¹¹-О-рамнозид витексина к коэффициенту удерживания гиперозида) должно лежать в пределах 1,2 -1,4.

Приготовление раствора стандартного образца гиперозида: Около 0,01 г гиперозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 70% этиловом спирте при нагревании на водяной бане. Затем содержимое колбы остужают до комнатной температуры и доводят 70% этиловым спиртом до метки.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 14%.

Зола общая. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 12%.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 3 %.

Измельченность сырья. *Цельное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, – не более 5%. *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито размером 7 мм, – не более 5% частиц, проходящих сквозь сито с отверстием размером 0,18 мм, – не более 5%.

Посторонние примеси.

Кусочки одревесневших стеблей. Цельное сырье – не более 2%.

Частей сырья, утративших естественную окраску. Цельное сырье – не более 2 %.

Органическая примесь. Цельное сырье – не более 1%.

Минеральная примесь. Цельное 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» (ГФ РФ XIV издания).

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (ГФ РФ XIV издания).

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (ГФ РФ XIV издания).

Микробиологическая чистота. В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота» (ГФ РФ XIV издания).

Количественное определение. *Цельное сырье, измельченное сырье:* суммы флавоноидов в пересчете на 2^п-О-рамнозид витексина не менее 2,0 %.

Сумма флавоноидов.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера 2 мм. Около 0,5 г сырья (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарирных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу охлаждают в течение 30 минут при комнатной температуре, закрывают той же пробкой снова

взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через рыхлый комочек ваты или фильтр с красной полосой (извлечение из побегов). Испытуемый раствор для анализа флавоноидов 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 70% этиловым спиртом (испытуемый раствор А). Раствор сравнения готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу на 25 мл, доводят объем раствора до метки 70% этиловым спиртом (раствор сравнения А).

Измерение оптической плотности проводят при длине волны 392 нм через 40 мин после приготовления всех растворов. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2^{II}-О-рамнозид витексина и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times 50 \times 25 \times 100}{232 \times m \times 1 \times (100 - W)}$$

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

232 – удельный показатель поглощения 2^{II}-О-рамнозид витексина;

m – масса сырья, в граммах;

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» (ГФ РФ XIV издания).

ФС _____ с. 9

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

Проректор по научной работе ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, лауреат премии Правительства
РФ, доктор медицинских наук, профессор

И.Л. Давыдкин

«10» сентября 2022

Заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой
и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, доктор фармацевтических наук,
профессор

В.А. Куркин

«10» сентября 2022

Профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и
основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России, доктор фармацевтических наук,
доцент

О.Е. Правдивцева

«10» сентября 2022

Очный аспирант кафедры фармакогнозии с
ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО
СамГМУ Минздрава России

Н.А. Волкова

«10» сентября 2022