

**АНДРЕЕВА ЮЛИЯ АНДРЕЕВНА**

**Фармакогностическое исследование  
*Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K.Koch)**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

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

**Научный руководитель:**

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

**Официальные оппоненты:**

**Белоногова Валентина Дмитриевна** – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии, заведующий кафедрой.

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

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

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке по адресу: 443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171 и на сайте (<https://samsmu.ru/scientists/science/referats/2025/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г.

**Ученый секретарь диссертационного совета,**  
кандидат фармацевтических наук, доцент

**Жданова Алина Валитовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации до 2030 года уделяет значительное внимание разработке эффективных лекарственных средств, ориентированных на использование в медицинской практике. В данном контексте особую роль играют фитопрепараты, которые выделяются широким спектром терапевтического действия, мягким воздействием на организм и минимальным риском развития серьезных побочных эффектов или противопоказаний. Такие препараты особенно востребованы при лечении хронических заболеваний, требующих длительного применения медикаментов.

Фитопрепараты обладают значительным медицинским потенциалом в терапии сердечно-сосудистых заболеваний, которые продолжают оставаться одной из главных угроз здоровью населения. Однако в настоящее время ассортимент препаратов, доступных для лечения данной группы патологий, остается ограниченным. Это указывает на необходимость проведения углубленных исследований и разработки новых фитотерапевтических средств, способных обеспечить расширение их применения в современной клинической практике.

Представители рода Боярышник (*Crataegus* L., сем. Розоцветные – *Rosaceae*), являются одним из значимых лекарственных растений, известных своими фармакологическими свойствами, широко применяется в медицинской практике для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы. В настоящее время для заготовки сырья используются 12 видов растений рода Боярышник. Многие российские ученые занимались изучением сырья представителей рода Боярышник, такие как В.А. Куркин, Т.Л. Киселева, Н.В. Кудашкина, И.А. Самылина, С.Р. Хасанова, Е.Ю. Бабаева. На территории Российской Федерации не все виды боярышника доступны для промышленной заготовки сырья. Это связано с рядом факторов, таких как ограниченная численность некоторых видов, их распространение в труднодоступных местах, а также необходимость сохранения биоразнообразия. В связи с этим становится актуальным проведение углубленных фармакогностических исследований, направленных на изучение новых видов боярышника. Вместе с тем в нашей стране широко культивируются крупноплодные североамериканские виды боярышника, одним из которых является боярышник вееровидный – *Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K. Koch. Данный вид боярышника имеет крупные плоды и широко используется в качестве декоративного и пищевого растения, при этом в медицинской практике в Российской Федерации в настоящее время не применяется. Химический состав сырья боярышника вееровидного (*Crataegus flabellata*) в настоящее время остается недостаточно изученным, что объясняет отсутствие данного вида в Государственной Фармакопее Российской Федерации XV издания. Этот факт подчеркивает необходимость проведения комплексного фармакогностического исследования, направленного на детальное изучение химического состава и фармакологических свойств для создания новых лекарственных средств на растительной основе.

В нашей стране сырьем боярышника являются цветки и плоды, однако за рубежом находят применение листья и цветущие побеги боярышника. Растения, относящиеся к роду *Crataegus* L., отличаются быстрым ростом, поэтому их побеги подрезают практически в течение всего года. В летний период с целью формирования кроны боярышника срезают неодревесневшие стебли с листьями и несозревшими плодами. В осенний период и ранней весной проводят санитарную обрезку одревесневших побегов с почками, образуемая фитомасса при этом почти не используется в настоящее время. Следовательно, побеги боярышника могут являться основой различных лекарственных препаратов.

**Степень разработанности темы.** Боярышник вееровидный в настоящее время не используется для заготовки сырья, хотя он давно введен в культуру в нашей стране. Морфолого-анатомическая характеристика, химический состав и фармакологические свойства сырья

боярышника вееролистного изучены в настоящее время в недостаточной степени. Следует отметить, что помимо цветков и плодов у боярышника вееролистного возможно использование побегов и листьев. Кроме того, анализ сырья и препаратов боярышника нуждаются, на наш взгляд в некоторой оптимизации и унификации методик.

**Цель работы и основные задачи исследования.** Цель данной работы является проведение комплексного фармакогностического исследования сырья боярышника вееролистного (*Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K. Koch), направленного на научное обоснование возможности его применения в медицинской практике.

Для достижения поставленной цели диссертационного исследования, были поставлены ряд задач:

1. Исследование морфолого-анатомических признаков плодов, цветущих, летних и одревесневших побегов боярышника вееролистного (*Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K. Koch).
2. Исследование фитохимического состава плодов боярышника вееролистного (*Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K. Koch).
3. Разработка методик качественного и количественного анализа плодов боярышника вееролистного (*Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K. Koch).
4. Проведение сравнительного фитохимического исследования цветущих, летних и одревесневших побегов *Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K. Koch.
5. Изучение антимикробного и диуретического действия препаратов, полученных на основе сырья боярышника вееролистного.
6. Разработка проекта фармакопейной статьи (ФС) на ЛРС «Боярышника вееролистного плоды» для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации.

**Научная новизна.** Проведен морфолого-анатомический анализ свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника вееролистного с получением цифровых микрофотографий. Изучение морфологии и анатомии цветущих побегов *Crataegus flabellata*, позволило выявить черты сходства с побегами других представителей рода *Crataegus* L. Выявленные отличительные диагностические признаки боярышника вееролистного, которые могут быть полезны в плане идентификации сырья.

Для плодов боярышника вееролистного впервые предложены методы качественного и количественного анализа, осуществляемые с использованием УФ-спектрофотометрии и ВЭЖХ. Проведено изучение влияния процесса замораживания на содержание суммы флавоноидов в плодах и препаратах на их основе. Результаты фитохимического исследования подтверждают наличие биологически активных веществ в различных видах сырья боярышника вееролистного, что открывает новые перспективы для их использования. Установлены особенности химического состава для листьев и цветков – преобладание окисленных форм флавоноидов, тогда как в одревесневших побегах и почек характерно доминирование их восстановленных форм.

Впервые изучен химический состав плодов боярышника вееролистного, были выделены вещества: хлорогеновая кислота, катехин, 2<sup>п</sup>-О-рамнозид витексина.

Для сока, полученного из плодов боярышника вееролистного, установлена диуретическая активность. Антимикробную активность в отношении грамположительных бактерий проявили настойки, полученные на основе различных видов сырья боярышника вееролистного. Полученные результаты подтверждают перспективность изучения сырья боярышника вееролистного. Подана заявка на изобретение № 2024127044 (решение о выдаче патента 03.03.2025) (Приложение № 5).

**Теоретическая и практическая значимость.** Данные, полученные по морфолого-анатомическому анализу, фитохимическому исследованию и изучению фармакологических

свойств, позволят расширить сырьевую базу для заготовки лекарственного растительного сырья и включить боярышник вееровидный в Государственную фармакопею Российской Федерации.

Для плодов *Crataegus flabellata* доминирующими веществами являются катехин и хлорогеновая кислота. Отмечено, что при проведении спектрофотометрического анализа извлечения плодов имеют максимум поглощения, который составляет  $282 \pm 2$  нм, совпадающий с максимумом катехина. Также из данного вида сырья выделены БАС: хлорогеновая кислота, катехин, 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина.

Было исследовано антимикробное и противогрибковое действие настоек из различных частей боярышника вееровидного, которые показали высокую активность в отношении: *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, при этом действие настоек превышает действие 70% этилового спирта. В ходе изучения фармакологического действия было выявлено, что сок свежих плодов боярышника вееровидного проявляет умеренную диуретическую активность.

**Внедрение результатов исследования.** Результаты диссертационного исследования используются в работе кафедр Института фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России и кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО ПФА Минздрава России. Разработанные методики анализа растительного сырья и продуктов из сырья боярышника вееровидного апробированы и используются в производственных процессах на ЗАО «Самаралектравы» и в ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области».

**Личный вклад автора.** Результаты, отражённые в диссертационной работе, были получены автором самостоятельно. В данном исследовании определены диагностические признаки сырья боярышника вееровидного. Проведено фитохимическое изучение плодов, листьев, цветков и побегов *C. flabellata*, а также выполнено выделение и идентификация индивидуальных компонентов плодов. Кроме того, разработаны методики анализа плодов *C. flabellata* с применением УФ-спектрофотометрии, ВЭЖХ и ТСХ, проведено сравнительное исследование плодов *C. flabellata* с плодами других представителей рода *Crataegus* L., что позволило создать проект ФС на ЛРС «Боярышника вееровидного плоды».

**Связь задач исследования с планами научно-исследовательских работ.** Исследование проводилось в соответствии с планом научно-исследовательских работ Самарского государственного медицинского университета в рамках темы НИР: «Химико-фармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» (регистрационный номер: АААА-А19-119051490148-7, дата регистрации: 14.05.2019 г.).

**Методология и методы исследования.** Методологический подход диссертационной работы основывается на углубленном и комплексном анализе, а также систематизации литературных источников, посвящённых фармакогностическому исследованию рода Боярышник и виду *Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K. Koch. Важное значение придаётся оценке актуальности выбранной темы и степени её научной разработки.

Объектами исследования являлись плоды, цветки, листья боярышника вееровидного, побеги собранные на разных этапах вегетации, а также в период сокодвижения побеги боярышника вееровидного, культивируемого в Самарской области. Все виды сырья были заготовлены в Ботаническом саду Самарского университета (г. Самара). Анализу подвергался также сок, полученный из свежих плодов боярышника вееровидного. Исследования выполнялись с использованием современных научных подходов, таких как цифровая микроскопия, тонкослойная, колоночная и высокоэффективная жидкостная хроматография, ультрафиолетовая спектрофотометрия, масс-спектрометрия и ЯМР-спектроскопии, а также фармакологические и микробиологические методы.

**Степень достоверности научных положений** базируется на обширном экспериментальном материале, полученном с применением современных методов исследования. Надежность полученных результатов обеспечивается высокой точностью обработки данных и использованием актуальных, проверенных источников информации. Анализ данных осуществлялся с помощью математических методов обработки, что способствовало объективной оценке результатов исследований.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Основные положения, описанные в диссертационном исследовании, соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) по пунктам 2, 3, 5, 6.

**Основные положения, выдвигаемые на защиту:**

1. Результаты морфолого-анатомического исследования признаков плодов, цветущих, летних и осенних побегов боярышника вееровидного (*Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K. Koch).
2. Результаты исследования фитохимического состава плодов боярышника вееровидного (*Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K. Koch).
3. Разработка методик качественного и количественного анализа свежих и высушенных плодов боярышника вееровидного (*Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K. Koch).
4. Результаты фитохимического исследования цветущих, летних и осенних побегов *Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K. Koch.
5. Результаты изучения антимикробного и диуретического действия препаратов, полученных на основе сырья боярышника вееровидного.
6. Результаты разработки проекта ФС на ЛРС «Плоды боярышника вееровидного» для внесения в Государственную фармакопею Российской Федерации.

**Публикации.** Основные результаты диссертационного исследования представлены в 26 печатных публикациях, в том числе 6 статей – в журналах, включенных ВАК в перечень рецензируемых научных изданий, из них 2 статьи в журналах, включенных в МБД; 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе Scopus. Подана заявка на изобретение № 2024127044 (решение о выдаче патента 03.03.2025) (Приложение 5).

Основные материалы диссертационной работы были доложены и обсуждены на научных конференциях различных уровней: всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Аспирантские чтения» (Самара, 2022-2023 г.), научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 50-летию кафедры токсикологической химии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России «Актуальные проблемы химической безопасности в сфере фармацевтической и медицинской науки и практики» (Пермь, 14–15 декабря, 2022 г.), всероссийская научно-практическая конференция с международным участием ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России «Кромеровские чтения 2023» (Пермь, 26 апреля 2023 г.), международная научная конференция ФГБНУ ВИЛАР «Достижения и перспективы создания новых лекарственных растительных препаратов» (Москва, 2023 г.), 81 международная научно-практическая конференция молодых ученых и студентов ВолгГМУ «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (г. Волгоград, 19–21 апреля, 2023 г.), X Международная научно-методическая конференция, посвященная 25-летию создания фармацевтического факультета ВГУ «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств. Фармобразование-2023» (Воронеж, 28–29 сентября, 2023 г.), VII Дальневосточный медицинский молодежный форум ДВГМУ «Актуальные вопросы современной медицины» (Хабаровск, 02–14 октября, 2023 г.), научно-методическая конференция «V Гаммермановские чтения» (Пермь, 9-10 ноября, 2023 г.), XI Международная научная конференция молодых учёных ФГБНУ ВИЛАР

«Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» (2023г.), III Научно-практическая онлайн-конференция с международным участием «Современные проблемы фармации» (Самара, 2024 г.), III Международная научно-практическая конференция КемГМУ «Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики» (2023 г.), XXIII Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых ВГМУ «Студенческая медицинская наука XXI века» (Витебск, 26–27 октября, 2023 г.), первая международная конференция ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России «Интеграционные связи фармацевтической экологии —2023» (Москва, 14-16 ноября, 2023 г.), XIV Всероссийская научная конференция с международным участием Молодежного научного общества СПХФУ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 28 марта – 02 апреля, 2024 г.).

**Объем и структура работы.** Диссертационная работа изложена на 174 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 42 рисунками и 42 таблицами. Содержание работы представлено введением, литературным обзором, главой об объектах и методах исследования, 5 главами экспериментальных исследований, а также выводами и заключением. Список литературы состоит из 211 источников, среди которых 112 на иностранном языке. В конце работы после списка литературы представлены 7 приложений.

**Глава 1** – обзор научной литературы, посвященной исследованиям представителей рода *Crataegus* L. В ней представлены данные о применении видов рода Боярышник, таксономическая характеристика, ареал произрастания и способы культивирования, химический состав, а также информация о фармакологической активности различных видов сырья и современные аспекты использования представителей *Crataegus* L.

**Глава 2** подробно описывает объекты и методы исследования, используемые в ходе работы.

**Глава 3** содержит информацию о морфолого-анатомическом анализе свежих, воздушно-сухих и замороженных плодов боярышника вееровидного, а также результаты анализа цветущих побегов и побегов, собранных в разные периоды вегетации.

**Глава 4** посвящена фитохимическое исследование плодов боярышника вееровидного, выделению и идентификации индивидуальных соединений из плодов боярышника вееровидного.

**Глава 5** содержит результаты исследований, посвященные разработке методов качественного и количественного анализа свежих и воздушно-сухих плодов боярышника вееровидного. Проведено сравнительное изучение плодов боярышника вееровидного с плодами боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого. Представлены результаты исследования препаратов на основе плодов боярышника вееровидного, а также динамика накопления суммы флавоноидов в плодах боярышника вееровидного. Дополнительно предложены числовые показатели сырья, включённые в проект фармакопейной статьи на новое лекарственное растительное сырьё – «Боярышника вееровидного плоды».

Диссертация завершается заключением, выводами, списком литературы и приложениями.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объектами исследования являлись плоды (свежие, воздушно-сухие, замороженные), цветки, листья, кора, побеги некоторых представителей рода *Crataegus* L. Образцы заготавливались в период с 2022 года по 2024 на территории Ботанического сада Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева (Самарский университет).

Из сырья проводилось получение различных извлечений для фитохимического анализа, из свежих и размороженных плодов получали сок, который служил объектом исследования.

Экстракционные препараты были получены на основе плодов, жома плодов, полученного после отжима сока. Также объектами исследования являлись промышленные лекарственные препараты и фармацевтические субстанции растительного происхождения в качестве образцов сравнения.

Морфолого-анатомическое исследование образцов лекарственного растительного сырья осуществляли с использованием цифрового микроскопа марки «Carl Zeiss Primo Star 415500-0057-000» (Imaging Software for Microscopy ZEN core V2.7) с увеличением  $\times 40$ ,  $\times 100$  и  $\times 400$ .

Экспериментальные данные по изучению химического состава сырья боярышника с целью выделения индивидуальных веществ были получены с использованием силикагеля марки КСК 50/100 мкм и полиамида (Sigma-Aldrich (Merck), Германия), а также следующей приборной базы: аналитические весы «Сартогосм ЛВ 210-А» (Россия). Тонкослойную хроматографию проводили с использованием пластинок «Сорбфил ПТСХ АФ-А-УФ» (Россия). Спектрофотометрическое исследование проводили на спектрофотометре «Specord 40» (Analytik Jena) в кюветах с толщиной слоя 10 мм в диапазоне длин волн от 190 нм до 700 нм. ВЭЖХ-анализ проводили с использованием хроматографа «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») с ультрафиолетовым детектором. Спектральные характеристики выделенных веществ определяли путем регистрации  $^1\text{H}$ -ЯМР и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектров на приборе «JNM-ECX 400» (399,78 и 100,52 МГц, соответственно). Масс-спектры высокого разрешения были сняты на хромато-масс-спектрометре жидкостном «Expec L-Chrom MS WR» методом электрораспылительной ионизации (ESI).

Определяли антимикробное действия настоек из различных частей боярышника вееролистного с применением метода модифицированной мацерации 70% этанолом в соотношении сырья к экстрагенту 1:5. Кроме того, определяли диуретическое действие сока плодов боярышника вееролистного.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 1. Морфолого-анатомическое исследование свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника вееролистного

Плоды боярышника являются наиболее ценным сырьем, так как могут использоваться в свежем, высушенном, а также в замороженном виде.

Свежесобранные плоды боярышника вееролистного крупные, диаметром 10-12 мм. Мякоть кисло-сладкая. Плоды эллипсоидные или шаровидные, до 14 мм в длину, без видимого опушения и яркой красно-малиновой окраской, на поверхности имеются серые точки. Внутри - сочная мучнистая мякоть желтоватого цвета. На верхушке располагается коронка из остатков чашелистиков, направленных вверх. С противоположной стороны виден след от плодоножки. Плод содержит 3-5 твердых косточек длиной 6-7 мм с 1-3 ребрами на спинной стороне.

Высушенные плоды боярышника вееролистного — твердые, морщинистые, яблокообразные плоды, часто эллипсоидальной формы, длиной 8-10 мм и шириной 6-8 мм. Цвет варьируется от бурого-красного до темно-красного, вкус водного извлечения сладковатый.

При макроскопическом анализе размороженных плодов *Crataegus flabellata* было отмечено их сходство со свежими. Замороженные плоды имеют шаровидную форму и гладкую поверхность с едва заметными точками. Цвет плодов бурого-красный, а мякоть желто-коричневая, содержащая 3-5 твердых перинариев.

Микроскопические признаки эпидермиса плодов боярышника вееролистного *Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K.Koch имеют черты сходства с плодами фармакопейных видов растений рода Боярышник и боярышника мягковатого. Отличительной чертой поверхности плодов боярышника мягковатого является значительное опушение, отсутствующее у плодов боярышника вееролистного.

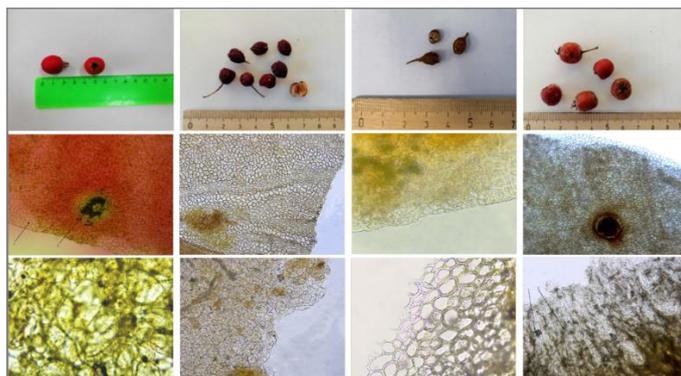


Рисунок 1 – Сравнительный морфолого-анатомический анализ плодов боярышника вееровидного

## 2. Морфолого-анатомический анализ побегов боярышника вееровидного, собранных в период цветения

Высушенные побеги *Crataegus flabellata* на стадии цветения включают стебли, листья, соцветия, бутоны и другие части растения. Они обладают слабым горьковатым вкусом и специфическим запахом. Стебель оливкового цвета, голый, длиной 2-5 см. Листья состоят из черешка (1-4 см) и пластинки с острыми концами, широкояйцевидной или ромбической формы, с 4-6 парами неглубоких лопастей. Длина листьев составляет 3-7 см, ширина – 2,5-6 см, на длинных побегах они достигают 9-8 см. Соцветия содержат 8-12 белых цветков с длинными цветоножками (1,5-2 см), с 5-12 тычинками и 3-5 столбиками. В сырье могут быть отдельные измельченные листья, части стеблей и бутоны.

Листовая пластинка боярышника вееровидного имеет дорзовентральное строение и перистое жилкование, верхний эпидермис – многоугольные клетки со слабоизвилистыми стенками, нижний эпидермис – клетки с сильноизвилистыми стенками и многочисленными устьицами, по краю расположены сидячие железки с коричневым содержимым.

На внутренней стороне эпидермиса лепестков видны сосочковидные выросты. Чашелистики покрыты железками, устьицами и простыми одноклеточными волосками. Железки имеют многоклеточные ножки и головки с коричневым содержимым. Прицветники состоят из вытянутых клеток с железками по краям. Все части сырья содержат друзы оксалата кальция.

Черешок листа имеет проводящий коллатеральный пучок полулунной формы. Основание черешка почти эллиптическое, средняя часть побега квадратная, а вершина неравномерно приподнятая. Форма проводящего пучка меняется от полулунной у основания до подковообразной в средней и верхней частях. Под эпидермисом находится слой уголкового колленхимы, а в основной паренхиме расположены открытые коллатеральные пучки.

Почки яйцевидные, длиной до 2 мм, с 4–6 чешуйками, бурыми, иногда с светлой каймой, гладкими или с ресничками. Внутри почек видны фрагменты соцветий и примордии с катафиллами. Основная окраска сосредоточена в кроющих чешуях разного размера. Многочисленны друзы оксалата кальция.

Кора имеет бурый пробковый слой из пяти рядов клеток, под которым находятся феллодерма, склеренхима и паренхима с друзами кальция оксалата. Сердцевинные лучи в первичной коре слабо изогнуты, однорядные. У одревесневших побегов присутствует камбиальный слой, отделяющий кору от древесины.

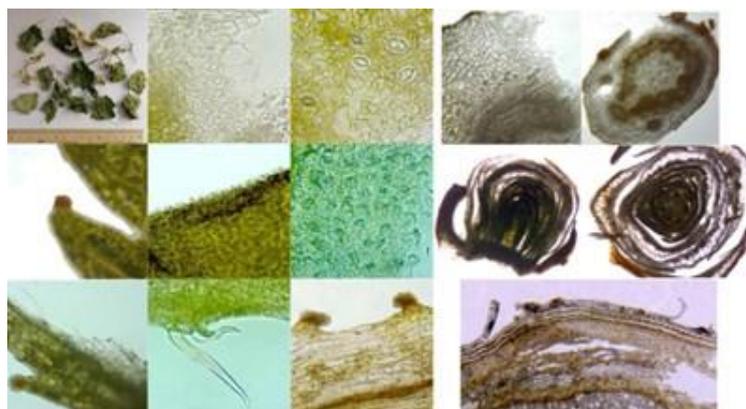


Рисунок 2 – Внешний вид и микроскопические признаки высушенных цветущих и одревесневших побегов боярышника вееровидного.

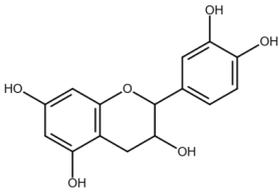
Микроскопический анализ показал сходство боярышника вееровидного с другими видами рода *Crataegus*, включая наличие сосочковидных выростов на эпителии лепестков и сидячих железок по краям листа. Отличительные черты *Crataegus flabellata* включают расположение железок на чашелистиках и прицветниках, а также наличие простых одноклеточных волосков на чашелистиках.

### 3. Фитохимическое исследование плодов боярышника вееровидного

Идентификацию соединения 1, 2, 3 проводили с помощью УФ-спектроскопии,  $^1\text{H}$  ЯМР- и  $^{13}\text{C}$  ЯМР- спектроскопии, масс-спектрометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Таблица 1 - Характеристика выделенных веществ из плодов боярышника вееровидного

№ п/п	Название и структурная формула	Характеристика
1.	<p><b>Хлорогеновая кислота</b></p>	<p>Кристаллическое вещество состава <math>\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9</math>. Т. пл. 203-205<math>^{\circ}</math> (вода). УФ-спектр в спирте этиловом: 243, 300 пл, 330 нм.</p> <p>Спектр ЯМР <math>^1\text{H}</math> (399.78 МГц, DMSO-d<math>_6</math>, <math>\delta</math>, м.д., J/Гц): 12.38 (1H, с, 5-COOH-группа), 9.55 (1H, уш. с., 4'-ОН-группа), 9.11 (1H, уш. с., 3'-ОН-группа), 7.40 (д, 16 Гц, H-7'), 6.99 (1H, д, 2 Гц, H-2'), 6.94 (1H, дд, 2 и 8 Гц, H-6'), 6.73 (1H, д, 8 Гц, H-5'), 6.11 (1H, д, 16 Гц, H-8'), 5.51 (1H, уш. с, H-3), 4.89 (1H, уш. с, H-5), 3.89 (1H, уш. с, H-4), 2.00 и 1.91 (2H, м, H-2, 1.97 и 1.95 (2H, м, H-6).</p> <p>Спектр ЯМР <math>^{13}\text{C}</math> (100.52 МГц, DMSO-d<math>_6</math>, <math>\delta\text{C}</math>, м.д.): 175.50 (7-COOH), 166.128 (C-9'), 148,89 (C-4'), 146,11 (C-3'), 126.14 (C-1'), 121.58 (C-6'), 70.84 (C-3 в C-5)? 116.94 (C-5'), 115.32 (C-2'), 114.82 (C-8'), 73.99 (C-1), 71.43 (C-4), 70.84 (C-3), 68/54 (C-5), 37.72 (C-2), 36.69 (C-6).</p> <p>Масс-спектр: HR-ESI-MS m/z 353.36 [M-H]<math>^-</math>.</p>
2.	<p><b>2<math>''</math>-О-рамнозид витексин</b></p>	<p>Светло-желтый кристаллический порошок состава <math>\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}</math>.</p> <p>Т.пл. 211-214<math>^{\circ}</math>С.</p> <p>УФ-спектр в спирте этиловом: 272, 334 нм.</p> <p>Время удерживания 11,50 мин, при <math>\lambda=276</math> нм</p>

3.	<p style="text-align: center;"><b>Катехин</b></p> 	<p>Белый кристаллический порошок C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>. Т.пл. 174 – 176<sup>0</sup>С. УФ-спектр в спирте этиловом: 282 нм.</p>
----	---	--

### 3.1. Исследование водно-спиртового извлечения плодов боярышника вееровидного методом ВЭЖХ

Для подтверждения специфичности разработанной методики анализа плодов боярышника вееровидного проведена оценка пригодности хроматографической системы методом ВЭЖХ. Извлечение из высушенного растительного сырья получали согласно методике, описанной в Главе 5 (п. 5.1). Идентификацию осуществляли с применением стандартного образца 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина по параметрам, представленным в Главе 2 (п. 2.3.2). Профиль градиента представлен в таблице 2.

Таблица 2 - Профиль градиента хроматографического разделения

Время, мин	ПФА, %	ПФБ, %
0-5	10	90
5-10	15	85
10-20	60	40

Хроматографическую систему проверяли пятикратным анализом разбавленного вдвое извлечения плодов боярышника (2 мкл) с расчетом эффективности колонки, разрешения между пиками и фактора асимметрии (табл. 3).

Таблица 3 - Определение пригодности хроматографической колонки

Параметр хроматографической колонки	Значение	Нормативный показатель
Эффективность колонки	6412	Не менее 5000 теоретических тарелок
Разрешение между наиболее близкими пиками	2,7	Не менее 1,5
Фактор асимметрии	1,1	Не более 1,5

В ходе ВЭЖХ-анализа установлено, что время удерживания стандартного раствора 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина составляет 11,55±0,6 мин (рис. 3 и табл. 4), а для водно-спиртового извлечения плодов боярышника вееровидного – 11,50±0,6 мин (рис. 4 и табл. 4).

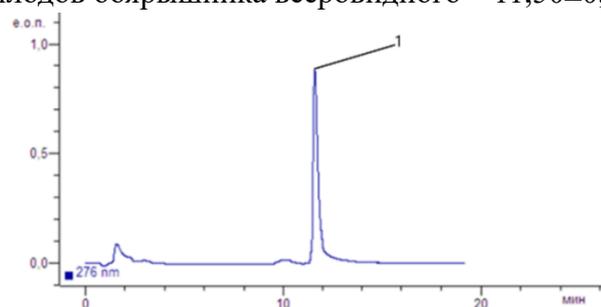


Рисунок 3. ВЭЖХ-хроматограмма 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина. 1-2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина

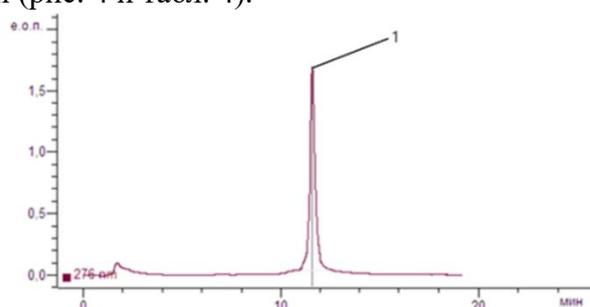
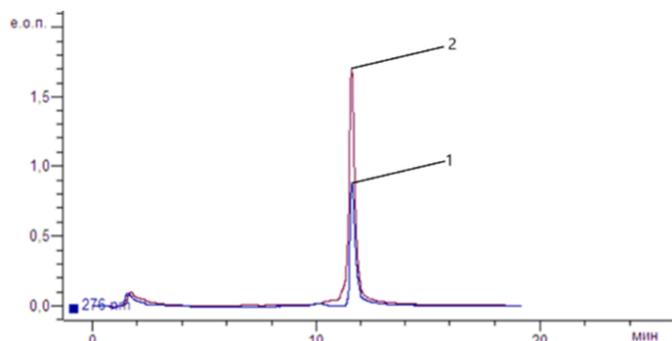


Рисунок 4. ВЭЖХ-хроматограмма водно-спиртового извлечения из плодов боярышника вееровидного. 1-2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина

Таблица 4 - Время удерживания пиков на хроматограммах извлечения и стандартного образца

Флавоноид	Время удерживания на хроматограмме, мин	
	Стандартный образец	Извлечение
2 <sup>II</sup> -О-рамнозид витексина (пик 1)	11,55	11,50

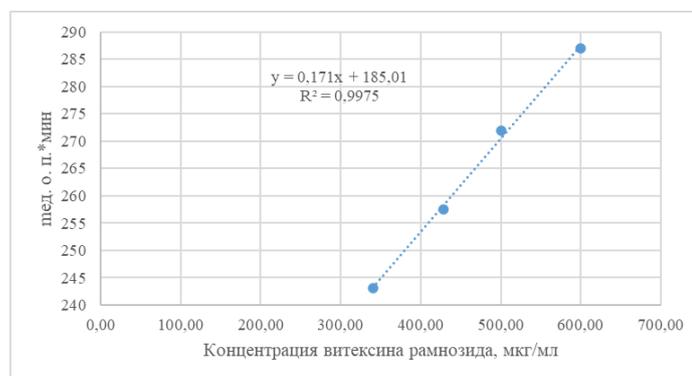
На рис. 5 приводится хроматограмма водно-спиртового извлечения из плодов боярышника вееролистного и хроматограмма водно-спиртового извлечения с добавкой стандартного раствора 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина.

Рисунок 5 - ВЭЖХ-хроматограмма извлечения из плодов боярышника вееролистного с добавлением 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина

Линейная регрессия описывала зависимость параметров хроматографического пика от концентрации 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина (380-600 мкг/мл), коэффициент корреляции для площади пика (0,9987) что обусловило выбор площади пика для количественного определения (рис. 6). Правильность методики подтверждали методом добавок стандартного образца (80-120%) к извлечению из плодов боярышника вееролистного (табл. 5).

Таблица 5 - Результаты определения правильности методики

Исходное содержание 2 <sup>II</sup> -О-рамнозид витексина, мкг/мл водно-спиртового извлечения	Добавлено 2 <sup>II</sup> -О-рамнозид витексина, мкг/мл	Содержание 2 <sup>II</sup> -О-рамнозид витексина, мкг/мл		Ошибка	
		Расчётное	Найденное	Абсолютная, мкг/мл	Относительная, %
470	380	850	820	-30	-3,53%
470	470	940	900	-40	-4,26%
470	560	1030	1070	+40	+3,88%

Рисунок 6 - График зависимости площади пика от концентрации 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина в пробе и уравнение линейной регрессии.

Метрологические характеристики разработанной методики ВЭЖХ-анализа свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения содержания 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина в плодах боярышника вееровидного с доверительной вероятностью 95% составляет ± 12,38% и средняя ошибка определения содержания 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина в плодах боярышника вееровидного с доверительной вероятностью 95% составляет ± 4,29% (табл. 7).

Таблица 7 - Метрологические характеристики методики количественного определения 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина в плодах боярышника вееровидного

n	f	$\bar{X}, \%$	S <sup>2</sup>	S	$S_{\bar{X}}$	P, %	t (P, f)	ΔX	Δ $\bar{X}$	E, %	$\bar{E}, \%$
11	10	1,05	0,002025	0,045	0,0136	95	2,23	±0,13	±0,0303	±12,38	±4,29

#### 4. Разработка методик количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на катехин в высушенных плодах боярышника вееровидного

С целью разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в плодах боярышника вееровидного были определены основные параметры пробоподготовки: степень измельчения сырья до размера частиц 3 мм, однократное извлечение 70% этиловым спиртом на кипящей водяной бане в течение 60 минут в соотношении «сырье экстрагент» - 1:100. Пересчет суммы флавоноидов проводили на катехин.

##### *Методика анализа воздушно-сухих плодов боярышника вееровидного*

Аналитическую пробу воздушно-сухих плодов боярышника вееровидного или жома плодов боярышника вееровидного измельчают до размера частиц 3 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 200 мл, прибавляют 100 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 и остужают в течение 30 минут. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через фильтр с красной полосой (извлечение из плодов).

Испытуемый раствор для анализа суммы флавоноидов готовят следующим образом: 2 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки 70% этиловым спиртом и перемешивают (испытуемый раствор). Раствором сравнения является 70% этиловым спиртом.

Оптическую плотность измеряют при аналитической длине волны 282 нм. Для вычисления содержания суммы флавоноидов (X в процентах) в пересчёте на катехин и абсолютно сухое сырьё, при отсутствии стандартного образца катехина, рекомендуется использовать его теоретическое значение удельного показателя поглощения, равное 144:

$$X = \frac{D \times 100 \times 25 \times 100}{144 \times m \times 2 \times (100 - W)}$$

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса сырья, г;

144 – удельный показатель поглощения ( $E_{1\text{см}}^{1\%}$ ) стандартного образца катехина при 282 нм;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

Содержание суммы флавоноидов в воздушно-сухих плодах и высушенного жома плодов боярышника вееровидного, по нашим данным, варьирует в пределах 3,63 % ± 3,73 %. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,29% (табл. 8).

Таблица 8 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в высушенных плодах боярышника вееровидного

f	$\bar{x}$	S	S <sup>2</sup>	P (%)	T (R, t)	$\Delta X$	E, %
10	3,68	0,0487	0,0025	95	2,23	$\pm 0,16$	$\pm 4,29$

Для количественного определения суммы флавоноидов в свежих плодах боярышника вееровидного рекомендован аналогичный подход, при этом использовано соотношение «сырье-экстрагент» 1:50.

#### 4.1. Сравнительное изучение сока и препаратов на основе плодов боярышника вееровидного

Сок из плодов боярышника вееровидного получают методом прямого отжима. Пектин осаждают добавлением этилового спирта в количестве 25% от массы сока и отстаиванием в течение 3 суток. Пектин из этого сока отличается более плотной консистенцией, что упрощает процесс осаждения. Объем сока, полученного из 100 г свежих плодов боярышника вееровидного, составляет 15,3 мл, что чуть меньше, чем 16,5 мл сока из боярышника полумягкого. Однако содержание флавоноидов в пересчете на катехин выше в соке вееровидного боярышника –  $0,30 \pm 0,02\%$ , по сравнению с  $0,20 \pm 0,01\%$  для сока из свежих плодов *Crataegus submollis*. Кроме того, электронные спектры соков обоих видов боярышника показали сходство кривых поглощения (рис. 7 и 8).

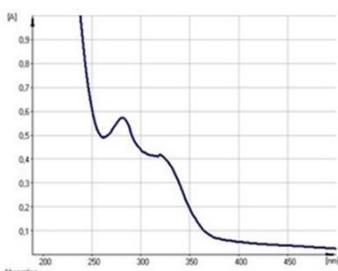


Рисунок 7 – Кривая поглощения сока свежих плодов боярышника полумягкого (разведение 1:50)

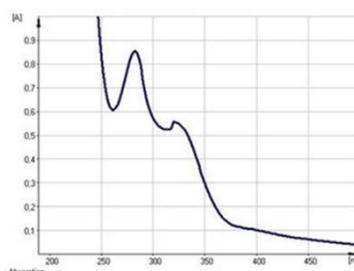


Рисунок 8 – Кривая поглощения сока свежих плодов боярышника вееровидного (разведение 1:50)

Исследование показало, что содержание флавоноидов, пересчитанных на катехин, в отваре ( $0,16 \pm 0,01\%$ ) значительно ниже, чем в соке ( $0,30 \pm 0,02\%$ ) (табл. 9), что свидетельствует о преимущественной концентрации биоактивных веществ в соке. Сок из свежих плодов, хранившийся 6 месяцев в холодильнике, продемонстрировал уменьшение содержания флавоноидов на 7%, указывая на его стабильность при таких условиях.

Свежие плоды боярышника вееровидного могут использоваться для получения сока, представляющего потенциальный новый лекарственный препарат в РФ. Однако их ограниченный срок хранения требует поиска методов консервации. Одним из таких методов является замораживание, широко обсуждаемое в научной литературе. Мы провели сравнительный анализ сока, полученного из свежих и замороженных плодов боярышника вееровидного (табл. 9).

Таблица 9 - Содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин (%) в сырье и соке боярышника вееровидного

№ п/п	Вид сырья	Содержание суммы флавоноидов в плодах, %	Содержание суммы флавоноидов в соке свежих плодов, %
1.	Плоды свежесобранные	$1,22 \pm 0,06$ %	$0,30 \pm 0,02$ %
2.	Плоды после размораживания	$1,26 \pm 0,06$ %	$0,80 \pm 0,04$ %

Результаты показывают существенное изменение содержания флавоноидов в соке после размораживания плодов, что может повлиять на их применение в медицине и пищевой

промышленности. Кроме того, исследованы жомы плодов боярышника вееровидного как с заморозкой, так и без неё (табл. 10).

Таблица 10 - Содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин (%) в сырье боярышника вееровидного и препаратах на его основе

№ п/п	Вид сырья	Содержание суммы флавоноидов в высушенном жоме, %	Содержание суммы флавоноидов в жидком экстракте, %
1.	Высушенный жом свежесобранных плодов	2,84±0,14 %	0,84±0,04 %
2.	Высушенный жом плодов после размораживания	1,99±0,05 %	0,46±0,05 %
3.	Высушенные плоды боярышника вееровидного, не подвергшиеся замораживанию и получению сока	4,36±0,22 %	1,00±0,05 %

Жидкий экстракт из высушенного жома был получен методом дробной мацерации с использованием 70% этилового спирта в соотношении 1:1. Исследование показало, что содержание флавоноидов в экстракте из плодов, не подвергнутых отжиму сока, выше, чем в жоме незамороженных плодов. Таким образом, плоды боярышника вееровидного можно перерабатывать сразу после сбора, получая одновременно сок и жидкий экстракт из одного сырья. Замораживание способствует сохранению биологически активных веществ в плодах боярышника вееровидного. Размороженные плоды пригодны для производства сока, однако жом после разморозки, по нашим данным, не подходит для приготовления экстрактов.

Настойки из плодов боярышника вееровидного и жома, оставшегося после отделения сока, были изготовлены без предварительного замораживания. Они готовились в соотношении 1:5 на основе 70% этилового спирта (табл. 11).

Таблица 11 – Содержание суммы флавоноидов в препаратах плодов боярышника вееровидного

№ п/п	Образец настойки плодов боярышника	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин в настойках плодов боярышника, %
1.	Настойка на основе плодов боярышника вееровидного	0,43 ± 0,02 %
2.	Настойка на основе высушенного жома плодов боярышника вееровидного	0,46 ± 0,02 %
3.	Жидкий экстракт на основе высушенных плодов боярышника вееровидного	1,07 ± 0,05%
4.	Густой экстракт на основе жидкого экстракта из высушенных плодов боярышника вееровидного	4,65 ± 0,02%
5.	Промышленный образец препарата «Боярышника плодов настойка» (ООО Гиппократ) (1:10) серия 170724	0,10 ± 0,01%

Показано, что высушенные плоды боярышника и жом служат сырьем для настоек, причем настойка на основе жома содержит больше флавоноидов. Промышленная настойка «Боярышника плодов» имеет заметно меньшее содержание флавоноидов.

Из высушенных плодов *Crataegus flabellata* получен жидкий экстракт методом модифицированной мацерации с 70% этиловым спиртом в соотношении 1:1. Удаление экстрагента дало густой экстракт, подходящий для медицинских целей, так как не содержит этиловый спирт. Анализ всех препаратов подтвердил высокое содержание флавоноидов, что делает плоды перспективными для создания новых лекарств.

## 5. Сравнительное фармакогностическое исследование различных видов сырья боярышника вееровидного

В рамках диссертационной работы нами были изучены другие виды сырья *C. flabellata*, к ним относятся побеги собранные в разные периоды вегетации: на стадии цветения, на стадии созревания, осенью после осыпания листьев и в период сокодвижения. В ходе эксперимента методом тонкослойной хроматографии (рис. 9) для цветков боярышника вееровидного было установлено, что доминирующим флавоноидом является гиперозид, что характерно и для цветков других видов боярышника. Содержание флавоноидов, выраженное в пересчете на гиперозид, составило  $1,97 \pm 0,05\%$  в распустившихся цветках,  $3,27 \pm 0,16\%$  в бутонах и  $4,97 \pm 0,25\%$  в цветущих побегах (пересчет на 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина), что сопоставимо с аналогичными показателями для других видов (рис. 10).

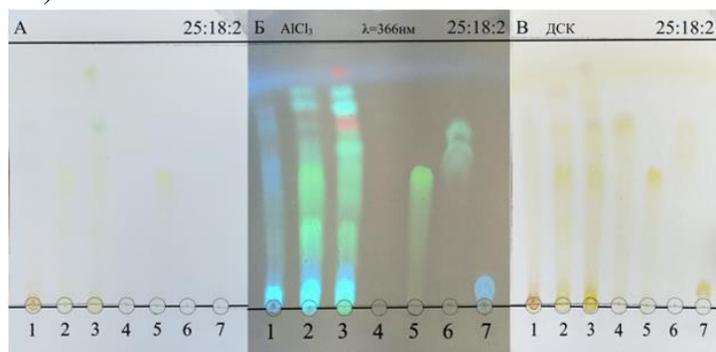
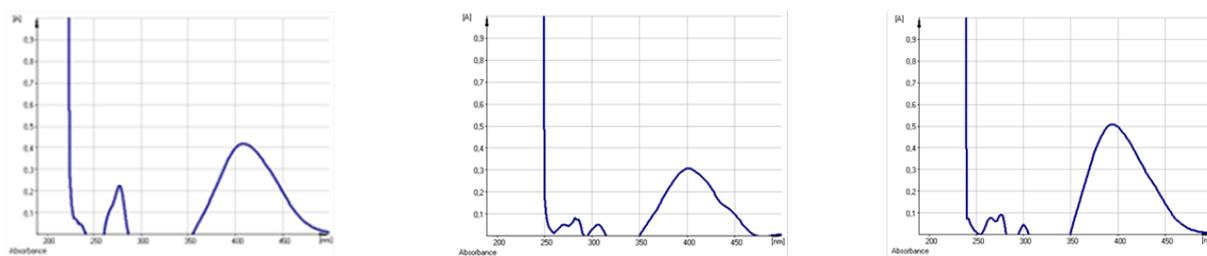


Рисунок 9 – Результаты тонкослойной хроматографии цветущих побегов (1), листьев (2) и цветков (3) боярышника вееровидного, СО катехина (4), СО гиперозида (5), СО 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина (6), СО хлорогеновой кислоты (7).



Дифференциальная кривая поглощения извлечения цветков боярышника вееровидного  
Дифференциальная кривая поглощения извлечения цветущих побегов боярышника вееровидного  
Дифференциальная кривая поглощения извлечения листьев боярышника вееровидного

Рисунок 10 - Дифференциальные кривые поглощения сырья боярышника вееровидного

Для спирто-водных извлечений листьев *Crataegus flabellata*, заготовленных в разные месяцы лета, с использованием спектрофотометрии были получены дифференциальные кривые поглощения (рис. 11). Полученные кривые показали, что максимальные значения поглощения у извлечений, собранных в различные периоды, отличаются друг от друга, при этом наблюдается существенное смещение максимума в сторону увеличения для образцов, собранных с мая по сентябрь. Этот эффект может служить дополнительным основанием для надежной идентификации сырья, представляющего собой листья боярышника вееровидного.

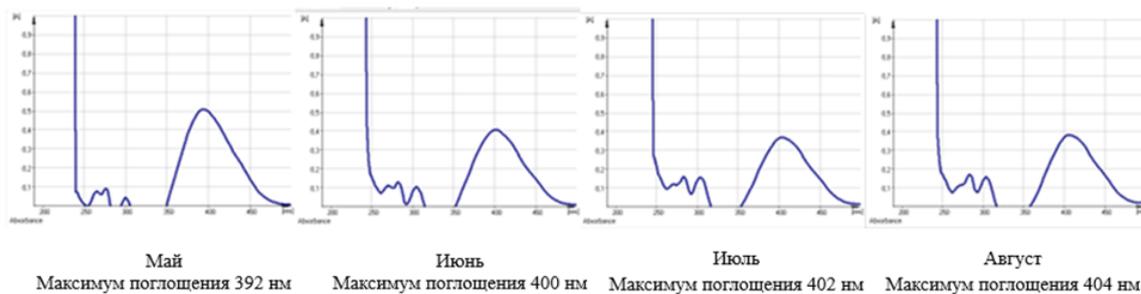
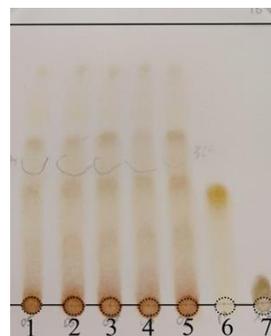


Рисунок 11 - Дифференциальные кривые поглощения извлечения из листьев боярышника вееровидного, собранных в период вегетации

Полученные хроматограммы листьев боярышника вееровидного выявили существенные различия в химическом составе по сравнению с листьями *Crataegus sanguinea* и *Crataegus submollis*, исследованными ранее. В частности, в листьях боярышника вееровидного флавоноид гиперозид обнаруживается в незначительных количествах, тогда как хлорогеновая кислота присутствует во всех образцах рис. 12.



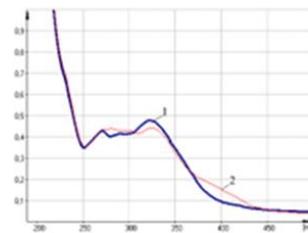
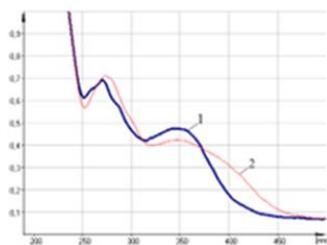
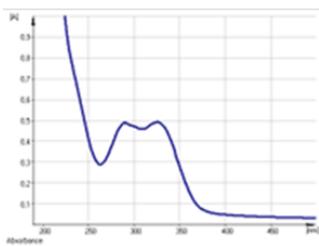
Проявление раствором алюминия хлорида и просматривание в УФ-свете при длине волны 366 нм



Проявление раствором диазотированной сульфаниловой кислоты и просматривание при видимом свете

Рисунок 12 – Результаты тонкослойной хроматографии листьев боярышника вееровидного. Обозначения: 1 – образец листьев, собранных в мае; 2 - образец листьев, собранных в июне; 3 - образец листьев, собранных в июле; 4 - образец листьев, собранных в августе; 5 - образец листьев, собранных в сентябре; 6 – раствор СО гиперозид; 7 – раствор СО хлорогеновой кислоты.

Анализ пятен методом хроматоспектрофотометрии позволил выделить несколько веществ: вещество 1 с максимумами 290 и 330 нм, вещество 2 – с максимумами 270 и 350 нм, вещество 3 – с максимумами 330 и 392 нм (при наличии раствора хлорида алюминия). При этом флавоноиды (вещество 2 и вещество 3) показали характерный батохромный сдвиг, что подтверждает их принадлежность к соединениям фенольной природы. Для количественного анализа был успешно применён метод дифференциальной спектрофотометрии (рис. 13), разработанный ранее для листьев боярышника кроваво-красного, с определением суммы флавоноидов в пересчете на 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина при длине волны 392 нм.



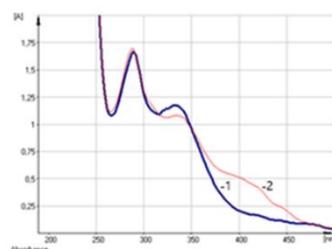
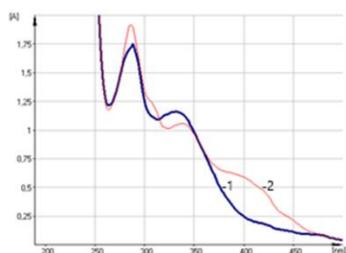
Кривая поглощения вещества 1      Кривые поглощения вещества 2      Кривая поглощения вещества 3  
Рисунок 13 – УФ-спектр веществ 1-3 из листьев боярышника вееролистного. Обозначения: 1 – без раствора алюминия хлорида; 2 – в присутствии раствора алюминия хлорида.

Анализ данных показал, что наибольшее содержание флавоноидов наблюдается в листьях, собранных в мае, причем уровень флавоноидов в листьях боярышника вееролистного превышает значения, характерные для листьев боярышника кроваво-красного (табл. 12).

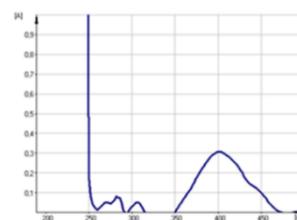
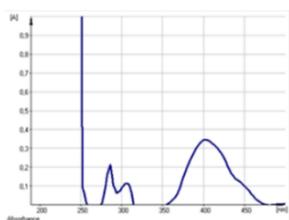
Таблица 12 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина в листьях боярышника, %

№ п/п	Вид боярышника	Период заготовки листьев			
		Май	Июнь	Июль	Август
1.	Боярышник кроваво-красный	4,11±0,21%	2,09±0,10%	2,19±0,11%	2,82±0,14%
2.	Боярышник вееролистный	5,72±0,29%	4,17±0,21%	3,60±0,18%	3,55±0,18%

Обрезка ветвей боярышника, проводимая для формирования кроны или создания живых изгородей, приводит к образованию значительного количества растительных отходов, особенно в первую половину лета. Изучение кривых поглощения извлечений из цветущих побегов обоих видов боярышника выявило наличие флавоноидов в окисленной форме, а характер их кривых поглощения оказался очень похожим. Дифференциальный максимум кривых для обоих электронных спектров составляет 392 нм, что позволяет рассчитать содержание суммы флавоноидов в пересчёте на 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина по аналогии с ранее исследованными побегами боярышника кроваво-красного (рис.14 и 15).



Побеги боярышника кроваво-красного      Побеги боярышника вееролистного  
Рисунок 14 - Кривые поглощения УФ-спектров извлечений из цветущих побегов боярышника кроваво-красного и боярышника вееролистного. Обозначения: 1 – Кривая поглощения УФ-спектра извлечения из побегов боярышника; 2 – В присутствии раствора алюминия хлорида



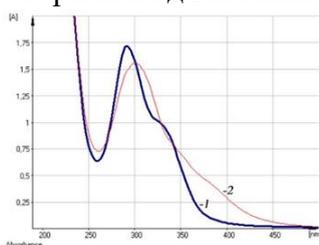
Побеги боярышника кроваво-красного      Побеги боярышника вееролистного  
Рисунок 15 - Дифференциальные кривые поглощения УФ-спектра извлечений из побегов боярышника кроваво-красного и боярышника вееролистного

Исследование летних побегов боярышника показало, что собранный в этот период сырьевой материал характеризуется высоким содержанием флавоноидов (табл. 13). Оптимальным периодом для заготовки сырья из молодых побегов боярышника вееролистного является июнь, когда наблюдается пик накопления флавоноидов. Этот месяц также совпадает со временем проведения летней обрезки кроны, что обеспечивает доступ к большому количеству неиспользуемых растительных остатков.

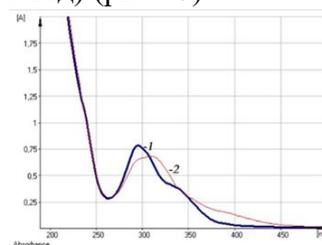
Таблица 13 - Содержание суммы флавоноидов в побегах боярышника

п/п	Вид сырья	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2 <sup>II</sup> -О-рамнозид витексина, %		
		Июнь	Июль	Август
1.	Побеги боярышника вееролистного	1,85±0,09%	1,70±0,09%	1,62±0,08%
2.	Побеги боярышника кроваво-красного	1,78±0,09%	1,54±0,08%	2,01±0,10%

**Исследование побегов боярышника вееролистного, собранных в период сокодвижения и в конце вегетационного периода.** Исследования проводились на одревесневших побегах *Crataegus sanguinea* Pall. и *Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) K.Koch, собранных в начале ноября при полном осыпании листьев. Анализировались как побеги целиком, так и их отдельные фракции – почки и древесина. Химический анализ осуществлялся методами прямой и дифференциальной спектрофотометрии с использованием ранее разработанных методик для плодов и листьев. Содержание суммы флавоноидов в почках определялось в пересчёте на катехин (прямой метод) (рис. 16) и на 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина (дифференциальный метод) (рис. 17).

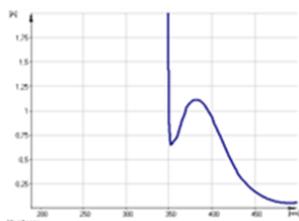


Почки боярышника кроваво-красного (разведение 1:750)

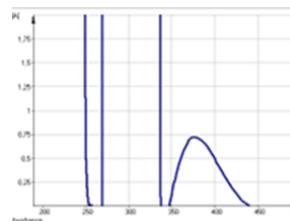


Почки боярышника вееролистного (разведение 1:2000)

Рисунок 16 - Кривые поглощения УФ-спектров извлечений из почек боярышника кроваво-красного и боярышника вееролистного. Обозначения: 1 – Кривая поглощения УФ-спектра извлечения из почек боярышника; 2 – в присутствии раствора алюминия хлорида.



Боярышник кроваво-красный



Боярышник вееролистный

Рисунок 17 – Дифференциальные кривые поглощения УФ-спектров извлечений из почек боярышника

Почки *Crataegus sanguinea* и *Crataegus flabellata* содержат значительные количества восстановленных и окисленных форм флавоноидов, при этом почки последнего вида показывают более высокий уровень восстановленных флавоноидов (табл.14).

Таблица 14 - Содержание суммы флавоноидов в почках осенних побегов боярышника

№ п/п	Вид сырья	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин, %	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2 <sup>п</sup> -О-рамнозид витексина, %
1.	Почки <i>Crataegus sanguinea</i>	18,09±0,91 %	1,92±0,10 %
2.	Почки <i>Crataegus flabellata</i>	18,75±0,93 %	1,43±0,07 %

Аналогичные выводы получены для одревесневших побегов, собранных с почками и корой. Кривые поглощения извлечений свидетельствуют о наличии флавоноидов во всех образцах, что позволяет рекомендовать их для медицинского применения, несмотря на трудности сбора мелких почек *Crataegus flabellata*.

В исследовании нами также изучались побеги боярышника двух видов в период сокодвижения. Кора, отделённая от древесины, была проанализирована на содержание флавоноидов методом спектрофотометрии. Извлечения из коры обоих видов продемонстрировали схожие кривые поглощения с максимумом при 392±2 нм, при этом кора вида вееролистного показала более высокое содержание восстановленных флавоноидов. Содержание флавоноидов в древесине побегов оказалось значительно ниже.

Таким образом, кора боярышника вееролистного может служить лекарственным растительным сырьём, однако использование побегов ограничено отсутствием обрезки в период сокодвижения.

## 6. Определение антимикробной и фармакологической активности препаратов на основе сырья боярышника вееролистного

В работе получены настойки из одревесневших побегов, листьев, цветков и плодов боярышника вееролистного методом модифицированной мацерации в 70% этаноле (соотношение 1:5). Флавоноиды определялись с учётом специфики сырья (пересчёт на катехин, витексин рамнозид или гиперозид), при этом максимальное содержание зарегистрировано в одревесневших побегах, далее следуют плоды, листья и цветки.

Антимикробное исследование показало полное ингибирование роста *Candida albicans* и выраженную активность в отношении грамположительных бактерий, что подтверждает потенциал настоек для лечения грибковых и смешанных инфекций. Полученные результаты свидетельствуют о высоком потенциале боярышника вееролистного как источника биологически активных флавоноидов и возможностей разработки новых антимикробных средств.

Экспериментально оценили диуретическую активность сока свежих плодов боярышника вееролистного на белых беспородных крысах обоего пола в дозировке 50 мкл/кг. Животные были распределены на три группы по 10 особей. Контрольная группа получала 3% водную нагрузку, а опытная группа – исследуемый препарат с эквивалентной водной нагрузкой. В 4-часовом эксперименте препарат сравнения – фуросемид (1 мг/кг) увеличил диурез на 23%, тогда как в суточном эксперименте гипотиазид (20 мг/кг) повысил диурез на 40% по сравнению с контролем. В 4-часовом эксперименте сок боярышника не привел к статистически значимым изменениям диуреза (1,54±0,14 мл против 1,62±0,23 мл, p=0,782), но в суточном эксперименте отмечено значительное увеличение диуреза (2,63±0,19 мл против 2,02±0,14 мл, p=0,024), что соответствует росту на 23%.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное фармакогностическое исследование сырья *Crataegus flabellata* (Bosc ex Spach) К. Koch.) позволило сделать следующие общие выводы:

1. Проведенное морфолого-анатомическое исследование сырья боярышника вееровидного позволило обнаружить характерные признаки для плодов, цветков, листьев и побегов с получением цифровых микрофотографий. Для плодов боярышника вееровидного характерна удлиненная форма с 3-5 косточками внутри. Цвет эпидермиса свежих плодов боярышника вееровидного имеет малиновую окраску, на лепестках имеются сосочковидные выросты, по краю листьев расположены коричневые железки, а чашелистики несут простые и головчатые волоски.
2. С помощью колоночной хроматографии из плодов *Crataegus flabellata* выделены индивидуальные соединения, структура которых установлена с использованием комплекса физико-химических методов, включающих высокоэффективную жидкостную хроматографию, тонкослойную хроматографию, <sup>1</sup>H-ЯМР-, <sup>13</sup>C-ЯМР-спектроскопию и масс-спектрометрию. Идентифицированные соединения относятся к классам флавоноидов (катехин, 2<sup>II</sup>-О-рамнозид витексина) и фенилпропаноидов (хлорогеновая кислота).
3. В качестве метода определения подлинности и количественного анализа для плодов боярышника вееровидного обоснована прямая спектрофотометрия при 282 нм с определением суммы флавоноидов в пересчете на катехин. Содержание суммы флавоноидов в сухом сырье находится в пределах 3,63±0,16% - 3,73±0,16%.
4. Определено, что наибольшее количество флавоноидов содержат листья боярышника вееровидного, собранные в мае (5,72±0,29% в пересчете на рамнозид витексина), и побеги, собранные в июне (1,85±0,09% в пересчете на рамнозид витексина). Одревесневшие побеги боярышника вееровидного также содержат высокий уровень биологически активных соединений, среди которых наибольшие показатели содержания флавоноидов в пересчете на катехин имеют почки боярышника вееровидного - 18,75±0,93%.
5. Установлено, что однократное введение сока плодов боярышника вееровидного в дозе 50 мкл/кг увеличивает диурез у лабораторных животных на 23% за 24 часа по сравнению с контролем, при этом спирто-водные извлечения из различных видов сырья боярышника вееровидного (плоды, цветки, листья и одревесневшие побеги) демонстрируют высокую антимикробную и противогрибковую активность в отношении: *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*.
6. Обоснована целесообразность применения как свежих, так и воздушно-сухих плодов боярышника вееровидного в качестве сырья для получения сока, настойки, жидкого и густого экстрактов.
7. Разработан проект фармакопейной статьи «Боярышника вееровидного плоды».

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Андреева, Ю.А. Сравнительный фитохимический анализ свежих плодов некоторых культивируемых видов рода Боярышник (*Crataegus* L.) / Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Т.М. Жавкина, С.А. Розно // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2023. – Т. 23, № 3. – С. 29-33.
2. Куркин, В.А. Получение сока из свежесобранных и размороженных плодов / В.А. Куркин, А.А. Андреев, Ю.А. Андреева, О.Е. Правдивцева, Н.Р. Варина, В.В. Стеняева // **Традиционная медицина**. – 2024. – № 1 (73). – С. 50-53. DOI: 10.54296/18186173\_2024\_1\_50.

3. Андреева, Ю.А. Морфолого-анатомическое исследование плодов боярышника вееровидного / Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // **Фармация** – 2024. – Т. 73, № 4. – С. 24-28.
4. Куркин, В.А. Сравнительное фитохимическое изучение почек и коры некоторых видов рода Боярышник / В.А. Куркин, Ю.А. Андреева, О.Е. Правдивцева, А.В. Жданова, А.В. Куркина, Т.М. Жавкина, Т.Л. Кисилева // **Химия растительного сырья**. – 2024. – № 3. – С. 169-176.
5. Андреева, Ю.А. Морфолого-анатомическое исследование цветущих побегов боярышника вееровидного / Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Т.М. Жавкина, А.В. Помогайбин // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2024. – Т. 24, № 2. – С. 76-80.
6. Андреева, Ю.А. Возможности использования лекарственного растительного сырья для получения пищевых продуктов с диетическими и функциональными свойствами / Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Т.М. Жавкина, Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова // **Медицинский вестник Башкортостана**. – 2024. – Т. 19, № 4 (112). – С. 56-61.
7. Андреева, Ю.А. Изучение подходов к комплексной переработке свежих плодов боярышника вееровидного / Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, А.А. Андреев, О.Е. Правдивцева // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии, Пермь, 14–15 декабря 2022 года. – Пермь, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2022. – С.148-150.
8. Андреева, Ю.А. Сравнительное исследование свежих плодов боярышника / Ю.А. Андреева // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Аспирантские чтения - 2022: Молодые ученые - медицине. Технологическое предпринимательство как будущее медицины", Самара, 23-24 ноября 2022 года. – Самара: ООО «СамЛюксПринт», Самарский государственный медицинский университет, 2023. – С. 262-264
9. Андреева, Ю.А. Изучение возможного использования свежих плодов боярышника (*Crataegus L.*) / Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // Главврач. – 2023. – №.1. – С.27-30.
10. Куркин, В.А. Фармакогностическое исследование различных видов сырья боярышника вееровидного / В.А. Куркин, Ю.А. Андреева, О.Е. Правдивцева, Е.В. Авдеева, В.В. Стеняева // Сборник научных трудов Международной научно-практической конференции "Достижения и перспективы создания новых лекарственных растительных препаратов", Москва, 15–16 июня 2023 года. – Москва, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2023. – С.120–125.
11. Андреева, Ю.А. Сравнительное изучение сырья европейских и североамериканских боярышников / Ю.А. Андреева // Сборник статей 81-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов "Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины", Волгоград, 19–21 апреля 2023 года. – Волгоград, Волгоградский государственный медицинский университет, 2023. – С. 353.
12. Андреева, Ю.А. Содержание суммы флавоноидов в побегах боярышника кроваво-красного и боярышника вееровидного / Ю.А. Андреева // Сборник трудов 9-ой Международной научно-методической конференции "Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств", Фармобразование-2023, Воронеж, 28–29 сентября 2023 года. – Воронеж, Воронежский государственный университет, 2023.– С. 149-153.

13. Андреева, Ю.А. Динамика суммы флавоноидов в коре видов рода *Crataegus* L. / Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, М.В. Егоров, С.А. Розно, И.В. Рузаева // Сборник трудов 9-ой Международной научно-методической конференции " Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств", Фармобразование-2023, Воронеж, 28–29 сентября 2023 года. – Воронеж, Воронежский государственный университет, 2023. – С. 153-156.
14. Андреева, Ю.А. Содержание суммы флавоноидов в плодах боярышника / Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, О.В. Шарова, Т.М. Жавкина, А.В. Помогайбин, И.В. Рузаева // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием " Кромеровские чтения 2023", Пермь, 26 апреля 2023 год. – Пермь, ПГФА, 2023.– С. 150-151.
15. Андреева, Ю.А. Изучение состава листьев боярышника мягковатого и боярышника вееровидного / Ю.А. Андреева, А.А. Андреев, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Т.М. Жавкина // Материалы VII Дальневосточного медицинского молодежного форума "Актуальные вопросы современной медицины", Хабаровск, 02–14 октября 2023 года. – Хабаровск, Дальневосточный государственный медицинский университет, 2023. – С. 208-209.
16. Андреева, Ю.А. Сравнительный анализ извлечений из листьев некоторых представителей рода *CRATAEGUS* L./ Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // Сборник научных трудов по материалам научно-методической конференции "V Гаммермановские чтения", Пермь, 9-10 ноября 2023 года. – Москва: РУСАЙНС, 2023. – С. 29-31
17. Андреева, Ю.А. Содержание суммы флавоноидов в осенних побегах некоторых видов рода *CRATAEGUS* L./ Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Т.М. Жавкина, А.В. Помогайбин // Материалы XI Международной научно-практической конференции молодых ученых "Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения" Москва, 30 ноября – 1 декабря 2023 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2023. – С. 145-148
18. Андреева, Ю.А. Изучение возможности получения сока из свежих плодов боярышника / Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, А.А. Андреев, Н.А. Волкова // Материалы III Международной научно-практической конференции "Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики", Кемерово, 26 мая 2023 год. – Кемерово, КемГМУ, 2023. – С. 232-235.
19. Куркин, В.А. Изучение химического состава листьев боярышника вееровидного / В.А. Куркин, Ю.А. Андреева, В.В. Стеняева, Н.Р. Варина, М.В. Егоров // Материалы III Международной научно-практической конференции "Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики", Кемерово, 26 мая 2023 год. – Кемерово, КемГМУ, 2023. – С. 265-268.
20. Правдивцева, О.Е. Изучение динамики накопления флавоноидов в плодах боярышника вееровидного/ О.Е. Правдивцева, Ю.А. Андреева, В.А. Куркин, Т.М. Жавкина, А.В. Помогайбин, И.В. Рузаева // Материалы III Международной научно-практической конференции "Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики", Кемерово, 26 мая 2023 год. – Кемерово, КемГМУ, 2023. – С. 269-272.
21. Андреева, Ю.А. Изучение содержания суммы флавоноидов в листьях некоторых видов рода *CRATAEGUS* L./ Ю.А. Андреева, А.А. Андреев, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева// Материалы XXIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых "

- Студенческая медицинская наука XXI века", Витебск, 26–27 октября 2023 года. – Витебск, Витебский государственный медицинский университет, 2023. – С. 84
22. Андреева, Ю.А. Сравнительный анализ содержания суммы флавоноидов в препаратах на основе плодов боярышника вееровидного/ Ю.А. Андреева// Сборник материалов XIV всероссийской научной конференции с международным участием Молодежного научного общества СПХФУ " Молодая фармация – потенциал будущего", Санкт-Петербург, 28 марта – 02 апреля 2024 года. – Санкт-Петербург, Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, 2024. – С.552-553.
  23. Андреева, Ю.А. Изучение содержания суммы флавоноидов в побегах некоторых видов рода *CRATAEGUS* L./ Ю.А. Андреева // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Аспирантские чтения - 2023: Молодые ученые - медицине. Приоритетные направления науки в достижении технологического суверенитета", Самара, 25 октября 2023 года. – Самара: ООО "Полиграфическое объединение "Стандарт", Самарский государственный медицинский университет, 2024. – С. 316-318.
  24. Куркин, В.А. Антимикробная активность и содержание флавоноидов в настойках листьев и цветков боярышника вееровидного / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Ю.А. Андреева, Д.Д. Исмагуллин, П.В. Бочкарева // Современные проблемы фармации: Сборник научных трудов III Научно-практической онлайн-конференции с международным участием, посвященной 105-летию Самарского государственного медицинского университета, Самара, 18–19 ноября 2024 года. – Самара: ООО "Полиграфическое объединение "Стандарт", Самарский государственный медицинский университет, 2024. – С. 140-142.
  25. Куркин, В.А. Антимикробная активность и содержание флавоноидов в настойках плодов боярышника однопестичного и боярышника вееровидного / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Ю.А. Андреева, А.А. Андреев, В.В. Стеняева // Современные проблемы фармации : Сборник научных трудов III Научно-практической онлайн-конференции с международным участием, посвященной 105-летию Самарского государственного медицинского университета, Самара, 18–19 ноября 2024 года. – Самара: ООО "Полиграфическое объединение "Стандарт", Самарский государственный медицинский университет, 2024. – С. 143-145.
  26. Андреева, Ю.А. Изучение комплексного подхода к заготовке сырья боярышника / Ю.А. Андреева, О.Е. Правдивцева // Сборник материалов Первой международной конференции «Интеграционные связи фармацевтической экологии - 2023», Москва, 14-16 ноября 2023 год. – Москва, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 2024. – С.15-16.

#### Патент

Средство, обладающее способностью подавлять рост *Candida albicans* и *Staphylococcus aureus*: Заявка № 2024127044/10(059900), дата подачи заявки 13.09.2024, решение о выдаче патента 03.03.2024/ Ю.А. Андреева, В.А. Куркин; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.