На правах рукописи

ЧЕРЕДНИК МАРИЯ КОНСТАНТИНОВНА

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БУТОНОВ И ПЛОДОВ СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ (*SOPHORA JAPONICA* L.)

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Самара – 2026

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

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

Официальные оппоненты:

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

Ханина Миниса Абдуллаевна – доктор фармацевтических наук, профессор, государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет», кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии, заведующий кафедрой.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь.

Защита состоится «_____» _____ 2026 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке по адресу: 443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171 и на сайте (http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats/2026/) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «_____» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук, доцент **Жданова Алина Валитовна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В современной медицине позиции лекарственных растений с каждым годом только укрепляются. Благодаря комплексному воздействию на организм, относительной безопасности, широкому фармакологическому спектру применение лекарственных растений часто предпочтительнее (Куркин В.А., 2016; Zhang J., 2022). Фармацевтическая промышленность требует инноваций, новых субстанций, в том числе растительного происхождения, а также замены импортных фармацевтических субстанций отечественными (Андреева Д.М.., 2016; Варина Н.Р., 2023; Дайронас Ж.В., 2022; Киселева Т.Л., 2009; Куркин В.А., 2025; Самбукова Б.В., 2017). Особый интерес в этой связи представляют флавоноиды, объединяющие многочисленную группу растительных метаболитов, которые встречаются во многих лекарственных растениях (Георгиевский В.П., 1990; Корулькин Д.Ю., 2007; Куркин В.А., 2002, 2023; Куркина А.В., 2012;Лавренов В.К., 1999, Сампиев А.М., 2020; Сидельников Н.И., 2024; Фенольные …, 2025). Перспективные в отношении флавоноидов лекарственные растения изучают крупнейшие ученые фармацевтического сообщества (Авдеева Е.В.,2025; Белоногова В.Д., 2023; Зилфикаров И.Н., 2023; Киселева Т.Л., 2024; Кудашкина Н.В., 2024; Куркин В.А., 2025; Мизина П.Г., 2025; Правдивцева О.Е., 2025; Пупыкина К.А., 2023; Самылина И.А., 2024; Ханина М.А., 2025; Шмыгарева А.А., 2024). Среди лекарственных растений софора японская (*Sophora japonica* L.) является рекордсменом по содержанию флавоноидов. Так, содержание рутина в бутонах софоры японской достигает 20-30% (Алеутский Н.Н., 2010; Европейская фармакопея, 2024; Куркин В.А., 2020, 2025; Насудари А.А., 1994; Яковлев Г.П., 2020). Флавоноидные соединения обладают высокой антиоксидантной, противоаллергической, противовоспалительной, спазмолитической, кардиопротекторной и противоопухолевой активностью (Сампиев А.М., 2020; Аляутдин Р.Н., 2022; Gábor M., 1988; Panche A. N. 2016; Ratnayake S. M. K., 2022). Рутин (3-*O*-рутинозид кверцетина), представитель флавоноидов, как фармацевтическая субстанция известен давно своими ангиопротекторными свойствами (Справочник Видаль, 2025; Békési A., 2012; Bensky D., 2004; Enogieru M. M. A. R., 2021; Szent-Györgyi A., 1936). В настоящее время в медицинской практике применяются бутоны и плоды софоры японской, однако по-прежнему актуальной проблемой является необходимость совершенствования стандартизации данных видов сырья. ВФС 42-341-74 «Софоры японской бутоны» не лишена недостатков: идентификация сырья проводится только по качественной реакции на флавоноиды, спектрофотометрическая методика количественного определения рутина нуждается в совершенствовании, отсутствует ВЭЖХ. ФС.2.5.0130 «Sophorae japonicae fructus» в разделе «Количественное определение» предусматривает определение суммы фенольных соединений, однако, на наш взгляд, используемая методика является недостаточно селективной, так как в плодах софоры японской наряду с флавоноидами содержатся такие фенольные соединения, как хлорогеновая, кофейная и галловая кислоты (Куркин В.А., 2024; Chen L., 2021).

Степень разработанности темы.

В Государственную фармакопею Российской Федерации XV издания (ГФ РФ XV) включена фармакопейная статья на сырье «Sophorae japonicae fructus» ФС.2.5.0130 (взамен ФС 42-452-72). В отношении бутонов софоры японской действует ВФС 42-341-74 «Софоры японской бутоны».

В ГФ РФ XV в ФС.2.5.0130 «Sophorae japonicae fructus» в разделе «Количественное определение» регламентировано определение содержания суммы фенольных соединений в пересчете на генистеин.

В Европейской фармакопее 8, 10, 11 изданий, как и в Американской фармакопее, плоды софоры японской не упоминаются. Несмотря на высокое содержание биологических активных веществ, плоды софоры японской в нашей стране применялись только для получения настойки для наружного применения, которая в настоящее время отсутствует в Государственном реестре лекарственных средств (Государственный …, 2025).

Бутоны софоры японской включены в составы многих биоактивных добавок (БАД) в качестве источника витамина Р (Машковский М.Д., 2012). Подлинность бутонов софоры японской в соответствии с ВФС 42-341-74 определяют в спиртовом извлечении из сырья качественной реакцией на флавоноидные соединения (вишнево-красное окрашивание при взаимодействии с цинковой пылью в присутствии концентрированной хлористоводородной кислоты), а содержание рутина определяют хроматоспектрофотометрическим методом. Содержание рутина в бутонах софоры японской в соответствии ВФС 42-341-74 «Софоры японской бутоны» должно быть не менее 16%, что значительно отличается от требований Европейской фармакопеи и подтверждает актуальность исследования с целью стандартизации ЛРС софоры японской.

Цель работы и основные задачи исследования.

Цель диссертационной работы - проведение комплексного фармакогностического исследования бутонов и плодов софоры японской в плане совершенствования стандартизации сырья данного растения

В связи с поставленной целью работы были определены следующие задачи:

1. Проведение морфолого-анатомического исследования бутонов и плодов софоры японской методом световой, люминесцентной и поляризационной микроскопии.
2. Проведение фитохимического исследования бутонов и плодов софоры японской.
3. Изучение флавоноидного состава плодов софоры японской.
4. Разработка методик определения подлинности бутонов и плодов софоры японской методом ТСХ.
5. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской методом УФ-спектроскопии.
6. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в плодах софоры японской методом УФ-спектроскопии.
7. Разработка методики количественного определения рутина в бутонах софоры японской методом ВЭЖХ.
8. Разработка методики количественного определения софорикозида в плодах софоры японской методом ВЭЖХ.
9. Выделение и идентификация доминирующие вещества плодов софоры японской методами ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.
10. Изучение диуретической и нейротропной активности густого экстракта плодов софоры японской и доминирующих веществ софорикозида и кемпферол-3-*О*-софорозида.

11. Разработка проекта фармакопейной статьи «Софоры японской бутоны» и проекта дополнений фармакопейной статьи ФС.2.5.0130 «Sophorae japonicae fructus».

Научная новизна. С использованием методов световой, люминесцентной и поляризационной микроскопии при исследования гистологических срезов плодов софоры японской (*Sophora japonica* L.) впервые выявлены такие морфолого-анатомические особенности строения плодов софоры японской, как энциклоцитный тип устьичного аппарата, ладьевидные замыкающие клетки устьичного аппарата, коллатеральный и пара коллатеральных бобовидной формы проводящих пучков в области спинки и брюшного шва боба, кристаллизация тканей вокруг коллатеральных пучков, люминесценция тканей боба и семени в диапазоне возбуждения 330-400 нм и 420-530 нм, наличие поверхностного адаптационного слоя воска на створках боба, наличие крахмальных зерен в устьичном аппарате, отсутствие слизи в паренхиме семени, наличие капель жира в паренхиме семени, аморфные скопления кристаллоидов флавоноидов,
склереиды кожуры семени. При морфолого-анатомическом исследовании бутонов софоры японской впервые выявлены диагностические особенности тычиночных нитей и гинецея цветка.

Впервые разработана методика определения подлинности сырья «Софоры японской бутоны» методом ТСХ со стандартными образцами рутина и кверцетина, что позволяет использовать хроматографический профиль сырья «Бутоны софоры японской» для идентификации и стандартизации экстракционных препаратов из данного сырья.

Впервые разработана методика определения подлинности сырья «Sophorae japonicae fructus» методом ТСХ с использованием стандартных образцов кемпферол-3-*O*-софорозида и софорикозида.

В результате проведённых фитохимических исследований из плодов софоры японской выделены впервые 4′-*O*-α-L-рамнопиранозид генистеина) и 4’-*O*-рутинозид генистеина [генистеин-4’-*O*-(6″-α-L-рамнопиранозил)-β-D-глюкопиранозида], химическая структуры которых установлена с применением методов УФ-спектроскопии, ^{1}H-ЯМР-спектроскопии, ^{13}C-ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии и результатов химических превращений.

Научно обоснована целесообразность стандартизации бутонов софоры японской по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на рутин методом дифференциальной УФ-спектроскопии, а также по содержанию рутина методом ВЭЖХ.

Научно обоснована целесообразность стандартизации плодов софоры японской по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид методом дифференциальной УФ-спектроскопии, а также по содержанию софорикозида методом ВЭЖХ.

Обнаружена антикреатининурезная активность (в опытах на животных) густого экстракта плодов софоры японской.

Обнаружено выраженное антидепрессантное действие кемпферол-3-*O*-софорозида и густого экстракта плодов софоры японской, которые повышают двигательную активность животных (по сравнению с контрольными группами) соответственно до 144% и 202%.

Разработаны проект фармакопейной статьи «Софоры японской бутоны» и проект дополнений фармакопейной статьи ФС.2.5.0130 «Софоры японской плоды».

Научная новизна диссертационного исследования подтверждается получением патента на изобретение № 2850387 «Методика количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской» (Приложение 2). Также научную новизну подтверждает решение о выдаче патентов на изобретение «Методика идентификации бутонов софоры японской» и «Способ количественного определения рутина в бутонах софоры японской методом ВЭЖХ», а также приоритетная справка по заявке на изобретение «Способ применения кемпферол-3-*О*-софорозида в качестве антидепрессантного средства».

Теоретическая и практическая значимость.

Выявленные морфолого-анатомические признаки бутонов и плодов софоры японской включены в разделы «Идентификация» соответствующих проектов фармакопейных статей.

Научно обоснована целесообразность определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской методом дифференциальной УФ-спектроскопии при длине волны 414 нм в пересчете на рутин. Определено, что сумма флавоноидов в пересчете на рутин варьирует от 16,12±1,33% до 22,37±1,33%, что позволило обосновать нижний предел содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в бутонах – не менее 16%. Полученные данные включены в проект фармакопейной статьи «Софоры японской бутоны».

Разработана методика количественного определения содержания рутина в бутонах софоры японской методом ВЭЖХ в изократическом режиме элюирования с использованием фармакопейного стандартного образца рутина. Определено, что содержание рутина в образцах бутонов софоры японской варьирует от 10,96±0,40% до 15,20±0,51%, что позволило обосновать нижний предел содержания рутина в бутонах – не менее 10,0%. Полученные данные внесены в проект фармакопейной статьи «Софоры японской бутоны».

Научно обосновано применение в качестве стандартного образца цинарозида и аналитической длины волны 400 нм при определении суммы флавоноидов в плодах софоры японской методом дифференциальной спектрофотометрии. Определено содержание суммы флавоноидов в плодах софоры японской в пересчете на цинарозид варьирует в пределах от 8,52±0,21% до 13,45±0,33%, что позволило обосновать нижний предел содержания суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид - не менее 8,0%. Полученные результаты исследования использованы при разработке раздела «Количественное определение» проекта дополнений к фармакопейной статье ФС.2.5.0130 «Софоры японской плоды».

Разработана методика количественного определения содержания софорикозида в плодах софоры японской методом ВЭЖХ в градиентном режиме элюирования с использованием стандартного образца софорикозида. Определено, что содержание софорикозида в плодах софоры японской варьирует в диапазоне от 5,45±0,22% до 6,67±0,75%, что позволило обосновать нижний предел содержания софорикозида в плодах софоры японской – не менее 5,0%. Полученные данные включены в проект дополнений к фармакопейной статье ФС.2.5.0130 «Софоры японской плоды».

Результаты диссертационного исследования использованы для стандартизации лекарственного растительного сырья софоры японской (*Sophora japonica* L.) и включены в проект фармакопейной статьи «Софоры японской бутоны» и проект дополнений к

фармакопейной статье ФС.2.5.0130 «Софоры японской плоды» (разделов «Идентификация» и «Количественное определение») с целью внедрения в Государственную фармакопею Российской Федерации.

Внедрение результатов исследования. Институт фармации ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области», Средне-Волжский филиал ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных ароматических растений» внедрили результаты диссертационного исследования в учебно-образовательные и научно-исследовательские процессы. Акты о внедрении прилагаются (Приложение 1).

Личный вклад автора. Автором лично проведено фармакогностическое исследование бутонов и плодов софоры японской. В ходе исследования автором идентифицированы образцы ЛРС, проведены микроскопические и гистохимические исследования, в результате обнаружены новые морфологические признаки бутонов и плодов софоры японской. Автором лично проведены исследования, в результате которых были определены оптимальные условия экстрагирования и получены водно-спиртовые извлечения бутонов и плодов софоры японской. Лично разработаны методики исследования методами ТСХ, УФ-спектрофотометрии, ВЭЖХ и определены предельные показатели доминирующих веществ в бутонах и плодах софоры японской. Автором выделены, очищены и идентифицированы 6 флавоноидов, оценена диуретическая, нейротропная активность двух выделенных веществ и густого экстракта плодов софоры японской.

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы данные включены в проект ФС «Софоры японской бутоны» и проект дополнений разделов «Идентификация», «Микроскопические признаки», «Количественное определение» ФС.2.5.0130 «Софоры японской плоды» (Приложения 4 и 5).

Связь задач исследования с планами научно-исследовательских работ. Фармакогностическое исследование бутонов и плодов софоры японской проводилось в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России в рамках НИР «Химико-фармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» (№ АААА-А19-119051490148-7 от 14.05.2019 г.).

Методология и методы исследования. В соответствии с общепринятыми практиками, методология исследования заключается в детальном и систематизированном изучении доступных литературных и электронных источников, комплексном анализе данных, касающихся фармакогностического исследования бутонов и плодов софоры японской, оценке актуальности и степени разработанности выбранной темы исследования, определении цели исследования, формулировании ключевых задач для её достижения, выборе объектов и методов исследования, разработке дизайна диссертационного исследования и его выполнении (Казакова М.А., 2025; Калашникова О.А., 2023).

Исследования проводились с использованием морфолого-анатомических, химических, хроматографических, спектральных (УФ- спектрофотометрии, ВЭЖХ, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия) методов анализа в соответствии с ГФ РФ XV.

Объекты исследования: промышленные образцы цветков нераспустившихся (бутонов) и плодов софоры японской различных регионов России.

В исследовании использовали стандартные образцы рутина, кверцетина, генистеина, цинарозида, софорикозида, кемпферол-3-*О*-софорозида, кемпферола.

Статистическую обработку полученных данных, осуществляли по регламенту Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания в соответствии с ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» и ОФС.1.1.0014.15 «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами».

Степень достоверности. Исследования проведены высокотехнологичными методами с использованием современной аппаратуры. Результаты исследования были обработаны с применением математических методов анализа данных. Объективность и достоверность полученных в исследовании результатов подтверждены валидационной оценкой по показателям специфичность, линейность, проведенной в соответствии с ГФ РФ XV. Полученные результаты представлены профессиональному фармацевтическому сообществу на всероссийских и международных конференциях и опубликованы в рецензируемых источниках.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует пп. 2, 3, 5, 6 паспорта научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки).

Положения, выдвигаемые на защиту:

1. Результаты морфолого-анатомического и фитохимического исследования бутонов и плодов софоры японской.
2. Результаты разработки методики определения подлинности бутонов и плодов софоры японской методом ТСХ.
3. Результаты разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в бутонах софоры японской методом дифференциальной УФ-спектроскопии.
4. Результаты исследований по разработке методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид в плодах софоры японской методом дифференциальной УФ-спектроскопии.
5. Результаты исследований по разработке методики количественного определения рутина в бутонах софоры японской методом обращенно-фазовой ВЭЖХ.
6. Результаты исследований по разработке методики количественного определения софорикозида в плодах софоры японской методом ВЭЖХ.
7. Результаты исследований по выделению, очистке, идентификации индивидуальных флавоноидов плодов софоры японской.
8. Результаты изучения диуретической и нейротропной активности густого экстракта плодов софоры японской и индивидуальных веществ указанного ЛРС.
9. Проект фармакопейной статьи «Софоры японской бутоны».
10. Проект дополнений к фармакопейной статье ФС.2.5.0130 «Софоры японской плоды».

Публикации. Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, представлены автором в 12 публикациях, в том числе в 7 статьях, из них 5 печатных работ

в журналах, включенных в перечень ВАК, 2 публикации на английском языке в журнале, индексируемом Scopus. Получен 1 патент Российской Федерации на изобретение № 2850387 «Методика количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской» (Приложение 2). Получено решение о выдаче 2-х патентов на изобретение «Методика идентификации бутонов софоры японской» и «Способ количественного определения рутина в бутонах софоры японской методом ВЭЖХ». Получена 1 приоритетная справка по заявке на изобретение «Способ применения кемпферол-3-*О*-софорозида в качестве антидепрессантного средства».

Апробация работы. Результаты диссертационной работы были доложены на V Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики» (Кемерово, 2024), III Научно-практической онлайн-конференции с международным участием, посвященной 105-летию Самарского государственного медицинского университета «Современные проблемы фармации» (Самара, 2024), IV Научно-практическая онлайн-конференции с международным участием, посвященной 95-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, профессора А.А. Лебедева и 70-летию со дня рождения заслуженного работника высшей школы РФ профессора В.А. Егорова (Самара, 2025), XII Всероссийском симпозиуме «Фенольные соединения» (Москва, 2025), Всероссийской научно-практической конференция с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарств – приоритетное направление развития фармацевтической науки» (Пермь, 2025).

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 214 страницах, состоит из введения, обзора литературы, главы об объектах и методах исследования, 4 глав результатов экспериментальных исследований с выводами по каждой главе. Работа иллюстрирована 32 таблицами и 46 рисунками. Далее приведен список 138 литературных и иных источников, использованных при написании, в том числе 52 на иностранных, а также приложения.

Ведение содержит описание актуальности темы диссертационного исследования, цель, задачи, научную новизну и практическую значимость работы, методологию исследования и личный вклад автора, положения, выносимые на защиту, сведения о публикациях и апробации работы.

Глава 1 содержит обзор литературы в области фармакогностического исследования бутонов и плодов софоры японской (*Sophora japonica* L.), включая историческую справку о растении, ботаническое описание, применение, химический состав, фармакологические свойства бутонов и плодов, информацию о стандартизации бутонов и плодов.

Глава 2 описывает объекты и методы исследования.

Глава 3 описывает результаты морфолого-анатомического анализа бутонов и плодов софоры японской в плане выявления новых идентификационных признаков растительного сырья.

В главе 4 отражены результаты выделения и установления структуры индивидуальных веществ из плодов софоры японской. Приведены формулы выделенных из плодов веществ, два из которых являются новыми природными соединениями.

Глава 5 содержит результаты разработки методик, способствующих усовершенствованию стандартизации бутонов и плодов софоры японской в области идентификации и определения количественных показателей доминирующих веществ

(суммы флавоноидов, количества рутина в бутонах и количества софорикозида в плодах) с применением методов ТСХ, УФ-спектроскопии и ВЭЖХ.

В главе 6 приведены результаты исследования нейротропной и диуретической активности густого экстракта плодов софоры японской, софорикозида и кемпферол-3-*О*-софорозида.

Завершает работу заключение, в котором содержатся выводы по работе, практические рекомендации по применению результатов исследования, описание перспектив дальнейшего исследования.

Далее приведен список использованных литературных и других источников и приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы. Объектами диссертационного исследования служили образцы воздушно-сухих плодов и бутонов софоры японской, заготовленных в различных регионах Российской Федерации в 2022-2023 годах.

Исследования проводились с использованием морфолого-анатомических, химических, хроматографических, спектральных (УФ-спектрофотометрии, ВЭЖХ, ЯМР-спектрометрия, масс-спектрометрия) методов анализа в соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации XV издания.

Морфолого-анатомические исследования образцов осуществляли методом световой микроскопии в проходящем и отраженном свете с увеличением кратным 40, 100, 400 с помощью микроскопов марки «Motic» DM-39C-N9GO-A и DM-1802 -Digital Microscopy (Корея); методом люминесцентной микроскопии с использованием люминесцентного микроскопа марки «Альтами» ЛЮМ-2 (Россия) и применением голубого (420-550 нм) и жёлтого (420-550 нм) светофильтров. Для поляризационной микроскопии использовали учебный поляризационный микроскоп ПЛМ-213.

При проведении гистохимических исследований использовали раствор Судан III для выявления липофильных веществ, реакцией с сернокислым анилином выявляли лигнин, спиртовым раствором $AlCl_3$ - флавоноиды, раствором гидроксида натрия 10% - полисахариды, раствором молочной кислоты 80% в присутствии глицерина - лигнин и крахмал, раствором Люголя обнаруживали крахмал и жиры.

Методом тонкослойной хроматографии исследовали водно-спиртовые извлечения из объектов исследования с применением стандартных образцов рутина, кверцетина, генистеина, софорикозида, кемпферол-3-*О*-софорозида, кемпферола, цинарозида. Использовали систему растворителей *н*-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:2) и хроматографические пластины марки «Sorbfil» типа ПТСХ-АФ-А-УФ (Россия). Зоны адсорбции веществ определяли в видимом свете и в УФ-свете (254 и 365 нм) до и после проявления хроматограмм 3% спиртовым раствором $AlCl_3$ и (или) раствором диазобензолсульфокислоты.

Для препаративного выделения веществ была применена колоночная хроматография на силикагеле КСК 50/100 с последующей рехроматографией. Для элюирования веществ на силикагеле использовали хлороформ, а также смеси хлороформа и этилового спирта в соотношениях 99:1, 98:2, 97:3, 95:5; 93:7, 90:10, 85:15, 80:20, 70:30, 60:40 и 50:50. Выбранные перспективные фракции элюата подвергали рехроматографии на полиамиде или силикагеле до получения индивидуальных веществ.

Изучение химического строения выделенных из плодов софоры японской индивидуальных веществ проводили на основании данных УФ-, ^{1}Н-ЯМР-, ^{13}С-ЯМР-

спектроскопии, масс-спектрометрии, а также результатов кислотного и ферментативного гидролиза. Спектры ЯМР 1Н получали на приборе «JNM-ECX 400» (399.78 МГц), спектры ЯМР 13С – на приборе «JNM-ECX 400» (100.52 МГц). Масс-спектры были зарегистрированы с применением электро-распылительной ионизации (ESI) на жидкостном хромато-масс-спектрометре «EXPEC L-Chrom MS WR». УФ-спектроскопию проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena AG, Германия) в диапазоне длин волн 190-500 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм и раствором сравнения спиртом этиловым 96%.

Кислотный гидролиз гликозидов осуществляли в присутствии 2% хлористоводородной кислоты на кипящей водяной бане в течение 2 часов. Ферментативный гидролиз гликозидов осуществляли в водном растворе β-глюкозидазы («Sigma»).

Идентификацию выделенных веществ и количественное определения доминирующих флавоноидов (рутина, софорикозида) проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на высокоэффективном жидкостной хроматографе «Милихром-6» (НПАО «Научприбор», Россия) на колонке «КАХ-6-80-4» (2 мм х 80 мм; С18 5 мкм). Для бутонов подобрана элюентная система, разделяющая рутин и кверцетин в изократическом режиме исследования. Для плодов использовали градиентный вариант метода.

Густой экстракт плодов софоры японской и выделенные из него кемпферол-3-*О*-софорозида и софорикозид исследовали на нейротропную и диуретическую активность.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Результаты морфолого-анатомического и фитохимического исследования бутонов и плодов софоры японской.

В результате морфолого-анатомического исследования бутонов софоры японской были уточнены макроскопические характеристики и микроскопические особенности бутонов софоры японской. Из ранее не описанных элементов цветка, имеющих диагностическое значение в определении видовой специфичности софоры японской, описаны тычиночные нити, гинецей цветка, а также бурая пигментация протопласта конечных клеток кроющих трихом (рис. 1-3).

Учитывая, что цветоножка бутонов софоры японской, имеющая размеры около 3 мм, является устойчивым морфологическим элементом, описали ее анатомические особенности как дополнительный диагностический признак сырья (рис. 3).

Диагностически значимым признаком для бутонов софоры японской является проводящая система цветоножки, представленная открытыми коллатеральными проводящими пучками, расположенными в два круга симметрично по отношению к рёбрам. Пучки внешнего круга мельче по размеру. Поперечное сечение цветоноса имеет округлое очертание с выраженной однородной волнистой ребристостью (рис. 3 Б).

Диагностическим признаком рахиса листа, встречающегося в сырьё (до 10%), является его овальная форма с широко-треугольным усечением с адаксиальной стороны в поперечном сечении в медиальной части (рис. 4). Проводящая система черешка представлена двумя округлыми сосудисто-волокнистыми пучками коллатерального типа, расположенными по рёбрам с адаксиальной части среза. По периферии пучки армированы непрерывным кольцом плотно сомкнутых склеренхимных волокон с лигнифицированными клеточными стенками (рис. 4 В, Д).

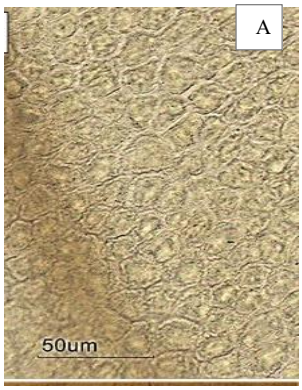


Рисунок 1 - Гистологические особенности андроцея цветка: А – тычиночная нить (×100), Б – эпидермальная поверхность тычиночной нити (×400).

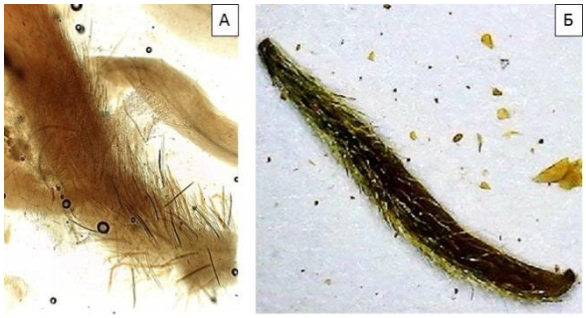


Рисунок 2 - Гистологические особенности гинецея цветка: А – густое опушение поверхности гинецея бичевидными волосками с бурой пигментацией протопласта (×100); Б – морфология гинецея

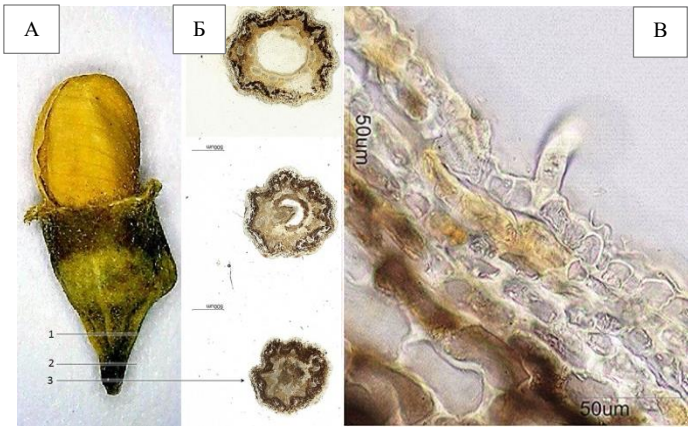


Рисунок 3 - Гистологические особенности цветоноса: А – общий вид бутона; Б – анатомические срезы цветоножки в области завязи гинецея(1), прикрепления гинецея (2) и цветоножки (3) (×40); В – уголково-пластинчатая колленхима под эпидермальной поверхностью (×400).

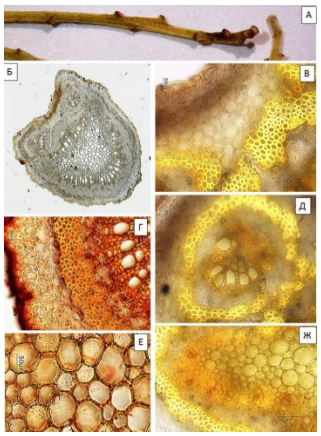


Рисунок 4 - Гистологические особенности рахиса листа: А – осевая часть рахиса как элемент сырья, Б – общий вид поперечного сечения рахиса (×100), В – склеренхима осевой части рахиса. Окраска раствором сернокислого анилина (×400), Г – окраска кутикулы и элементов флоэмной и ксилемной тканей раствором Судана III (× 400), Д – сосудисто-волокнистый пучок. Окраска раствором сернокислого анилина (×400), Е – основная паренхима сердцевины. Окраска раствором Судана III (×400), Ж – непучковые элементы проводящих тканей. Окраска раствором сернокислого анилина (×400).

Диагностически значимым признаком плодов софоры японской является доказательство содержания большого количества фенольных соединений, в том числе флавоноидов, выявляемое микрохимическими реакциями и с помощью люминесцентной микроскопии. На поверхности боба обнаруживается покрывающий адаптационный слой воска, который заполняет межклеточные пространства, при окраске раствором Судан III образуя очень характерный рисунок (рис. 5Б). На наружной стороне створок боба обнаружили устьица энциклоцитного типа (рис. 5) На поперечном сечении боба обнаруживаются коллатеральный пучок почковидной формы со стороны спинного шва и пара коллатеральных пучков со стороны брюшного шва.

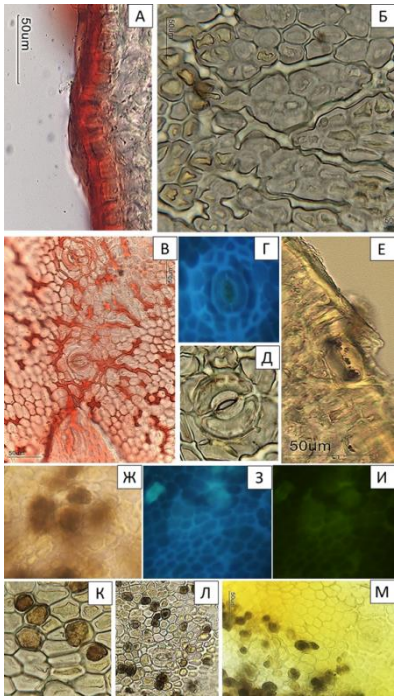


Рисунок 5 – **Диагностические особенности экзокарпия**: А – экзокарпий на поперечном сечении. Окраска раствором Судана III (×400); Б – Экзокарпий. Вид с поверхности (×400); В – окраска воскового слоя экзокарпия раствором Судана III; Г – люминесценция клеточных стенок и протопластов клеток энциклоцитного устьичного аппарата в диапазоне возбуждения 330-400 нм (×400); Д – Ладьевидная структура замыкающих клеток устьичного аппарата (×1000); Е - крахмальные зерна в структуре замыкающих клеток устьиц на поперечном сечении экзокарпия (×400); Ж – кристаллические включения в клетках экзокарпия. Вид с поверхности (×400); З – люминесценция клеток экзокарпия и кристаллических включений в диапазоне возбуждения 330-400 нм (×400); И - люминесценция клеток экзокарпия и кристаллических включений в диапазоне возбуждения 420-500 нм (×400); К – внутриклеточное расположение амморфных скоплений в клетках экзокарпия со стороны брюшного шва (×1000); Л – скопление аморфных кристаллоидов в клетках экзокарпия со стороны брюшного шва до обработки реактивом (×400); М – реакция растворения аморфных скоплений с окрашиванием в желтый цвет при обработке спиртовым раствором хлорида алюминия 3% (×400).

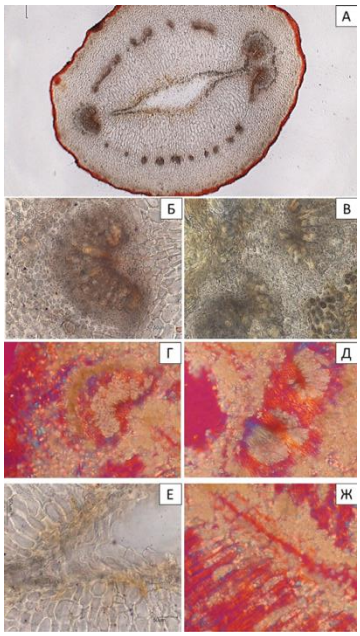


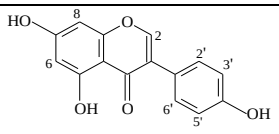
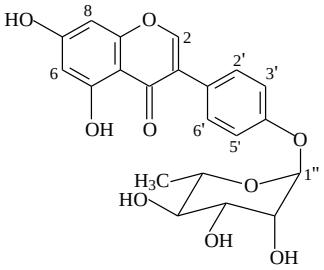
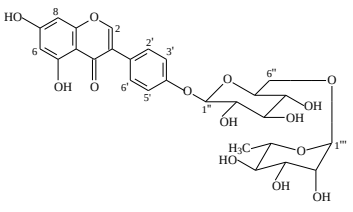
Рисунок 6 – **Анатомо-гистологическая структура створок**: А – Поперечный разрез створок боба в базальной части. Окраска раствором Судана III; Б – коллатеральный пучок почковидной формы со стороны спинного шва (×400); В – пара коллатеральных пучков со стороны брюшного шва (×400); Г – детектирование кристаллической обкладки в тканях вокруг пучка почковидной формы со стороны спинного шва в поляризационном микроскопе с λ-светофильтром (×400); Д - детектирование кристаллической обкладки в тканях вокруг пары пучков со стороны брюшного шва в поляризационном микроскопе с λ-светофильтром (×400); Е – место смыкания створок. Область эндокарпия (×400); Ж - детектирование кристаллической обкладки в тканях вокруг места смыкания створок в область эндокарпия (×400).

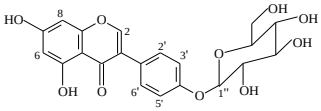
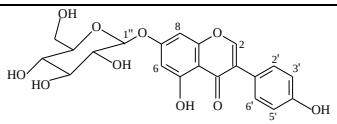
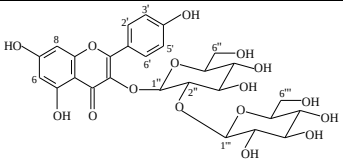
2. Результаты исследований по выделению, очистке, идентификации индивидуальных флавоноидов плодов софоры японской.

В результате проведенных исследований из плодов софоры японской выделены 6 флавоноидов, 2 из которых выделены из растительного сырья впервые (табл. 1).

На основании результатов ^{1}H-ЯМР-, ^{13}C-ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии были идентифицированы генистеин (4′,5,7-тригидроксиизофлавон), софорикозид (4′-*O*-β-D-глюкопиранозид генистеина), генистин (7-*O*-β-*O*-глюкопиранозид генистеина) и кемпферол-3-*O*-софоросид [кемпферол-3-*O*-(2′′-β-D-глюкопиранозил)-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,4’-тетрагидроксифлавона] и установлена химическая структура 2 новых веществ, это 4′-*O*-α-L-рамнопиранозид генистеина) и 4’-*O*-рутинозид генистеина [генистеин-4’-*O*-(6′′-α-L-рамнопиранозил)-β-D-глюкопиранозида].

Таблица 1 – Характеристики веществ, выделенных из плодов софоры японской (*Sophora japonica* L.), произрастающей в Краснодарском крае Российской Федерации

№	Структурная формула и название вещества	Характеристики
1	 Генистеин	Генистеин (4′,5,7-тригидроксиизофлавон) Кристаллическое вещество белого цвета состава $C_{15}H_{10}O_5$ с т.пл. 297-298 ºС (этиловый спирт); УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 262, 326 пл.
2	 **4’-*O*-рамнозид генистеина**	4′-*O*-α-L-рамнопиранозид 4′,5,7-тригидроксиизофлавона Кристаллическое вещество белого цвета состава $C_{21}H_{20}O_9$. УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 262, 326 пл. ^{1}H-ЯМР Спектр (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.86 (1H, с, 5-OH), 10.88 (1H, уш. с, 7-OH), 8.35 (1H, с, H-2), 7.45 (1H, д, J = 9.0, H-2’,6’), 7.00 (1H, д, J =9.0, H-3’,5’), 6.36(1H, д, J = 2.5, H-8), 6.19 (1H, д, J = 2.5, H-6), 5.10 (1H, уш.с, H-1’’ рамнозы), 3.10-4.68 (м, 4H рамнозы), 1.16 (3H, д, J = 6.0, CH_3 рамнозы). ^{13}C-ЯМР спектр (100.52 МГц, DMSO-d_6, δ_C, м.д.): 180.56 (C-4), 164.89 (C-7), 162.48 (C-5), 158.09 (C-9), 157.50 (C-4’), 154.98 (C-2), 130.70 (C-2’, C-6’), 124.75 (C-3), 122.40 (C-1’), 116.17 (C-3’, C-5’), 104.78 (C-10), 100.81 (C-1’’ глюкозы), 99,56 (C-6), 94.25 (C-8), 100.96 (C-1’’ рамнозы), 99.57 (C-6), 94.26 (C-8), 72.41 (C-3’’), 70.98 (C-5’’), 70.30 (C-4’’), 70.20 (C-2’’), 18.59 (C-6’’ рамнозы).
3	 **4’-*O*-рутинозид генистеина**	**4’-O-рутинозид генистеина** [генистеин-4’-*O*-(6′′-α-L-рамнопиранозил)-β-D-глюкопиранозида] Кристаллическое вещество белого цвета состава $C_{27}H_{30}O_{14}$, т. пл. 257-260º (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 262, 326 пл. ^{1}H-ЯМР Спектр (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.86 (1H, с, 5-OH), 10.80 (1H, уш. с, 7-OH), 8.34 (1H, с, H-2), 7.44(1H, д, J = 9.0, H-2’,6’), 7.07 (1H, д, 9.0, H-3’,5’), 6.34 (1H, д, J = 2.5, H-8), 6.19 (1H, д, J = 2.5, H-6), 5.30 (1H, д, J

		= 7.0 Гц, H-1'' глюкозы), 4.35 (1H, уш.с, H-1''' рамнозы), 2.80-5.03 (10H, м, 6H глюкозы + 4H рамнозы), 0.96 (3H, д, J = 6.0, CH_3 рамнозы). ^{13}C-ЯМР спектр (100.52 МГц, DMSO-d_6, δ_C, м.д.): 180.62 (C-4), 164.65 (C-7), 162.54 (C-5), 158.17 (C-9), 157.84 (C-4'), 154.99 (C-2), 130.63 (C-2', C-6'), 121.45 (C-1'), 116.61 (C-3', C-5'), 104.49 (C-10), 98,47 (C-6), 94.43 (C-8), 101.30 (C-1'' глюкозы), 77.18 (C-5''), 76.95 (C-3''), 72.46 (C-2''), 70.93 (C-4''), 67.56 (C-6''), 101.74 C-1''' рамнозы), 73.76 (C-4'''), 70.54 (C-2'''), 70.10 (C-3'''), 68.80 (C-5'''), 18.30 (C-6''' CH_3 рамнозы). Масс-спектр: HR-ESI-MS *m/z* 577.13 $[M-H]^-$.
4	 софорикозид	Софорикозид (4′-*O*-β-D-глюкопиранозид 4′,5,7-тригидроксиизофлавона) Кристаллическое вещество белого цвета состава $C_{21}H_{20}O_{10}$ с т.пл. 296-298 ^oC (водный спирт); УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 262, 326 пл.
5	 7-*O*-глюкозид генистеина	Генистин (7-*O*-β-*O*-глюкопиранозид 4′,5,7-тригидроксиизофлавона) Кристаллическое вещество белого цвета состава $C_{21}H_{20}O_{10}$ с т.пл. 252-254 ^oC (водный спирт); УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 262, 326 пл.
6	 кемпферол-3-*O*-софорозид	Кемпферол-3-*O*-софорозид [3-O-(2″-β-D-глюкопиранозил)-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,4'-тетрагидроксифлавона] (6). Светло-желтое кристаллическое вещество состава $C_{27}H_{30}O_{16}$ с т.пл. 193-195 ^oC (водный спирт), λmax EtOH 267, 355 нм

Выделенные кемпферол-3-*O*-софорозид и софорикозид использовали при разработке методики определения подлинности плодов софоры японской.

3. Результаты разработки методики определения подлинности бутонов и плодов софоры японской и их экстракционных препаратов методом ТСХ с применением двух стандартных образцов.

Софорикозид является доминирующим и диагностически значимым изофлавоном, в связи с чем использовался в качестве стандартного образца для количественного определения суммы флавоноидов и количества софорикозида в плодах софоры японской.

Разработаны методики идентификации бутонов и плодов софоры японской методом ТСХ с применением подвижной фазы *н*-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4:1:2). Для идентификации бутонов рекомендованы СО рутина и кверцетина, а для плодов - СО кемпферол-3-*O*-софорозида и софорикозида (рис. 7).

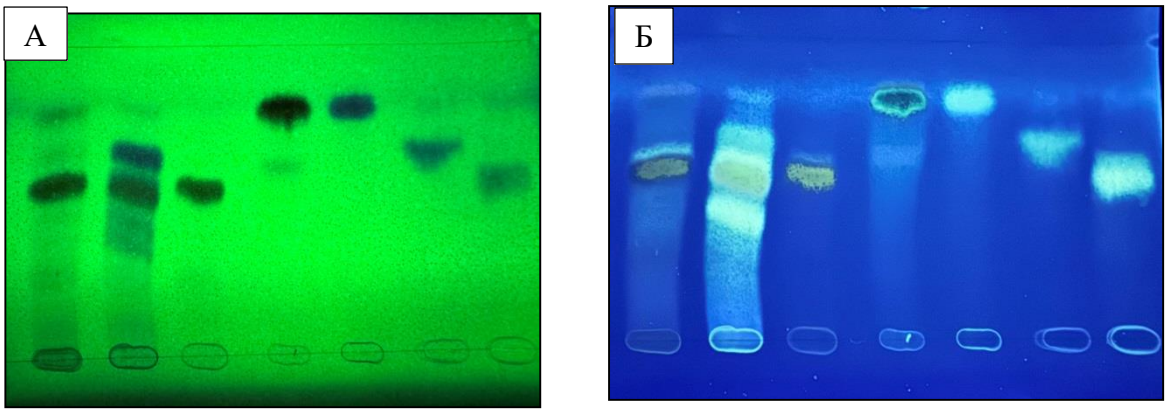


Рисунок 7 - ТСХ в УФ-свете при длине волны 254 нм (А) и при длине волны 365 нм после проявления алюминия хлоридом (Б): водно-спиртовое извлечение из бутонов софоры японской (1), водно-спиртовое извлечение из плодов софоры японской (2), СО рутина (3), СО кверцетина (4), СО софорикозида (5), СО кемпферол-3-*О*-софорозида (6), СО генистеина (7).

4. Результаты разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в бутонах софоры японской.

В соответствии с ВФС 42-341-74 содержание в ЛРС «Софоры японской бутоны» рутина определяется хроматоспектрофотометрическим методом и должно быть не менее 16% .

На наш взгляд, целесообразным является определение в бутонах софоры японской не только рутина, но и суммы флавоноидов.

В качестве метода исследования использована прямая и дифференциальная спектрофотометрия в диапазоне длин волн 190-500 нм (кювета с толщиной слоя 10 мм).

Присутствие флавоноидов подтверждается батохромным сдвигом максимума поглощения длинноволновой полосы в электронном спектре водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской в присутствии алюминия хлорида в область 414±2 нм (рис. 8). Максимум поглощения в электронном спектре водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской при 414±2 нм обнаруживается также и в дифференциальном варианте (рис. 9).

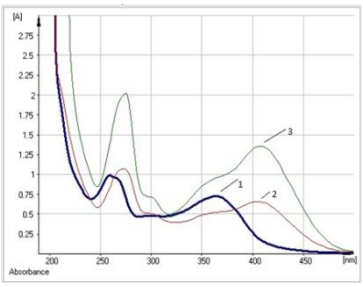


Рисунок 8. Электронные спектры водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской (1), водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской в присутствии алюминия хлорида (2) и спиртового раствора ФСО рутина в присутствии $AlCl_3$.

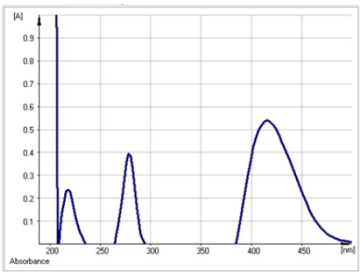


Рисунок 9 - Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской (дифференциальный вариант).

Изучение УФ-спектров водно-спиртового раствора СО рутина в условиях прямой спектрофотометрии в присутствии $AlCl_3$ также показало наличие батохромного сдвига максимума поглощения длинноволновый полосы в область 414±2 нм и максимума поглощения в условиях дифференциальной спектрофотометрии при 414±2 нм, следовательно, именно рутин определяет спектральные характеристики водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской.

Это позволяет рекомендовать использование в методике количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской в качестве стандартного образца рутин, имеющий в условиях дифференциальной спектрофотометрии, как и водно-спиртовое извлечение бутонов софоры японской, максимум поглощения при 414±2 нм.

В результате проведенных исследований обоснованы следующие оптимальные параметры методики количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской: степень измельчения – фракция, проходящая через сито с отверстиями 2 мм, экстрагент - 70 % этиловый спирт в извлечение на кипящей водяной бане в течение 40 минут, используя соотношение «сырье – экстрагент» - 1:50.

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

$$X=\frac{D\cdot m_0\cdot 50\cdot 25\cdot 2\cdot 100}{D_0\cdot m\cdot 2\cdot 2\cdot 25\cdot 25}\cdot\frac{100}{100-W},$$

Где D – оптическая плотность испытуемого раствора извлечения сырья; D_0 - оптическая плотность раствора ФСО рутина; m – масса сырья, г; m_0 – масса ФСО рутина, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

В случае отсутствия ФСО рутина целесообразно использовать рассчитанное значение удельного показателя поглощения при 414 нм – **226**:

$$X=\frac{D\cdot 50\cdot 25\cdot 100}{m\cdot 2\cdot 226\cdot (100-W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 226– удельный показатель поглощения ($E_{1\,см}^{1\%}$) ФСО рутина при 414 нм; W – потеря в массе при высушивании, %.

Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов в водно-спиртовом извлечении бутонов софоры японской и раствора ФСО рутина.

Линейность методики определяли для серии водно-спиртовых растворов ФСО рутина (с концентрациями в диапазоне от 0,0052 до 0,0520 мг/мл) при длине волны 414 нм. Также линейность методики определили для серии извлечений бутонов софоры японской 70% спиртом (с концентрациями флавоноидов по рутину в диапазоне от 0,0108 до 0,0395 мг/мл) при длине волны 414 нм (рис. 10 и 11; табл. 2 и 3).

Таблица 2 - Исходные данные для оценки линейности методики по раствору ФСО рутина

Концентрация водно-спиртового раствора рутина, мг/мл	Значение оптической плотности, е.о.п. (среднее значение из четырех последовательных измерений)
0,0052	0,1051
0,0104	0,2196
0,0208	0,4386
0,0520	1,1640

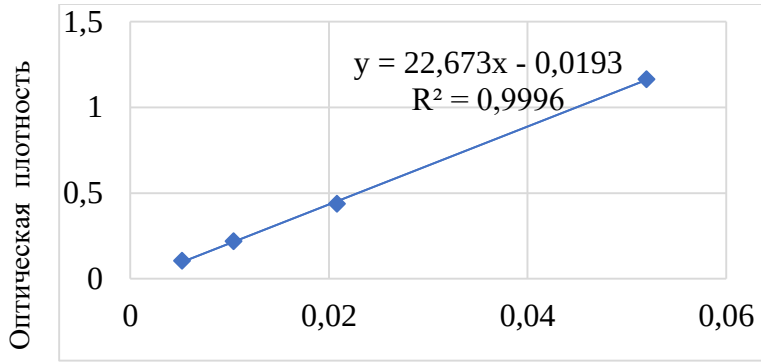


Рисунок 10 - Зависимость оптической плотности от концентрации водно-спиртовых растворов ФСО рутина.

Таблица 3 - Исходные данные для оценки линейности методики по серии извлечений бутонов софоры японской 70% спиртом

Концентрация флавоноидов водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской, мг/мл	Значение оптической плотности, е.о.п. (среднее значение из четырех последовательных измерений)
0,0395	0,8212
0,024	0,498
0,0108	0,224

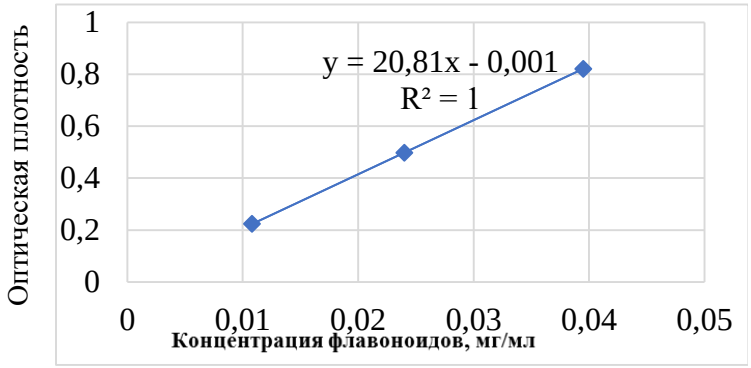


Рисунок 11 - Зависимость оптической плотности от концентрации флавоноидов в водно-спиртовых извлечениях бутонов софоры японской.

Метрологические характеристики разработанной методики количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской представлены в таблице 4.

Ошибка единичного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,40% (табл. 4).

Таблица 4 - Результаты оценки прецизионности методики количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской (уровень повторяемости)

n	**f**	**$\bar{x}$**	**S**	**$S_{\bar{X}}$**	**P,%**	**T(P,t) (табл)**	**Δx**	**$\Delta\bar{x}$**	**E,%**	**$\bar{\varepsilon}$,%**
11	10	21,18	0,42	0,13	95	2,23	±0,93	±0,28	±4,40	±1,33

Определено, что сумма флавоноидов в пересчете на рутин в бутонах софоры японской варьирует от 16,12±1,33% до 22,37±1,33%, что позволило обосновать нижний предел содержания флавоноидов в бутонах - «не менее 16,0%».

5. Результаты исследований по разработке методики количественного определения рутина в бутонах софоры японской методом обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Принимая во внимание недостатки хроматоспектрофотометрического метода определения содержания рутина в бутонах софоры японской (ВФС 42-341-74), разработана методика количественного определения содержания рутина в бутонах софоры японской методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в изократическом режиме с использованием ФСО рутина на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром-6» на стальной колонке «КАХ-6-80-4» (№2; 2 мм х 80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), элюентная система - ацетонитрил : 1% раствор уксусной кислоты в соотношении 2:8, скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем подвижной фазы - 1500 мкл; объем пробы испытуемого раствора 4 мкл (рис. 12 и 13).

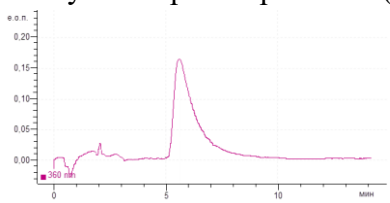


Рисунок 12 - ВЭЖХ-хроматограмма СО рутина в изократическом режиме.

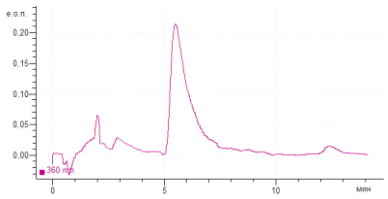


Рисунок 13 - ВЭЖХ-хроматограмма извлечения из бутонов софоры японской в изократическом режиме.

Это позволило нам разработать методику количественного определения содержания рутина в бутонах софоры японской методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в изократическом режиме. Правильность и линейность методики подтверждали на образце извлечения бутонов софоры японской введением аликвоты образца раствора стандартного образца рутина в количестве от 80% до 120% от исходного содержания.

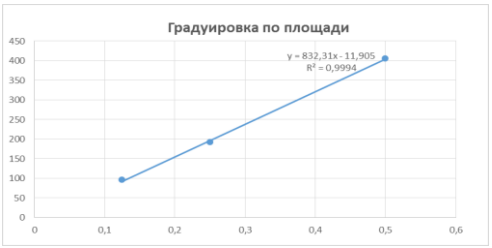


Рисунок 14 - График зависимости площади пика от концентрации рутина. Уравнение линейной регрессии.

Определено, что содержание рутина в бутонах софоры японской варьирует от 10,96±0,40% до 15,20±0,51%, что позволило обосновать числовой показатель для данного сырья - нижний предел содержания флавоноидов «не менее 10,0%».

Таблица 5 - Метрологические характеристики методики количественного определения рутина в бутонах софоры японской

n	***f***	$\bar{x}$	s^2	**S**	$S_{\bar{X}}$	**P,%**	**t(P, f)**	***Δx***	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$,%	**E,%**
11	10	14,43	0,1765	0,4201	0,1850	95	2,23	±0,94	±0,41	±2,86	±6,49

6. Результаты исследований по разработке методики количественного определения софорикозида и суммы флавоноидов плодов софоры японской.

В соответствии с ФС.2.5.0130 «Софоры японской плоды» Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания в плодах софоры японской предусмотрено определение суммы фенольных соединений в пересчете на генистеин. Нами обоснована целесообразность определения в плодах софоры японской суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид при аналитической длине волны 400 нм.

Определено, что сумма флавоноидов в пересчете на цинарозид в плодах софоры японской варьирует от 8,52±0,21% до 13,45±0,33% что позволило обосновать числовой показатель для данного сырья - нижний предел содержания флавоноидов «не менее 8,0%».

Линейность методики определяли для серии водно-спиртовых растворов СО цинарозида (с концентрациями в диапазоне от 0,00424 до 0,0424 мг/мл) при длине волны 400 нм.

Таблица 6 - Метрологические характеристики разработанной методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид в плодах софоры японской

n	***f***	$\bar{x}$	**S**	$S_{\bar{X}}$	**P,%**	**t(P, f)**	$\Delta\bar{x}$	**E,%**
11	10	13,36	0,4351	0,1312	95	2,23	±0,33	±2,48

Предварительно было определено, что софорикозид имеет максимум поглощения при длине волны 262±2 нм, как и водно-спиртовое извлечение из плодов софоры японской; софорикозид вносит существенный вклад в кривую поглощения УФ-спектров извлечения из плодов софоры японской; оптимальная аналитическая длина волны для проведения ВЭЖХ-анализа 262 нм.

В результате проведения ВЭЖХ-анализа выявлено, что в условиях градиентного режима в водно-спиртовом извлечении из плодов софоры японской обнаруживаются девять пиков (рис. 15). Доминирующий по высоте и площади пик соответствует времени удерживания СО софорикозида - около 16 мин, что подтверждается добавками к извлечению из плодов софоры японской СО софорикозида (рис. 16).

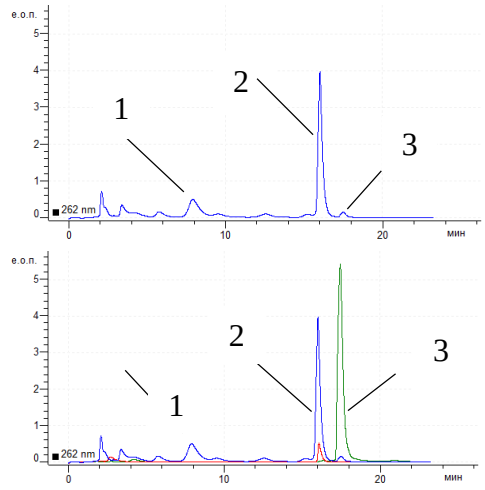


Рисунок 15 - ВЭЖХ-хроматограмма извлечения из плодов софоры японской.
Обозначения: кемпферол-3-О-софоросид (1); софорикозид (2); генистеин (3).

Рисунок 16 - Наложение ВЭЖХ-хроматограмм извлечения из плодов софоры японской (1), СО софорикозида (2) и СО генистеина (3).

Время удерживания пиков на хроматограммах извлечения и стандартных образцов: софорикозид 15,90 мин. и 15,92 мин; генистеина 17,394 мин. и 17,40 мин.; кемпферол-3-*О*-софоросида 7,85 мин. и 7,88 мин.

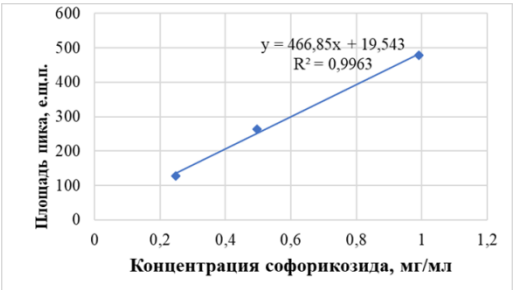


Рисунок 17 - График зависимости площади пика от концентрации спиртового раствора софорикозида. Уравнение линейной регрессии. Коэффициент детерминации.

Таблица 7 - Метрологические характеристики методики количественного определения софорикозида в плодах софоры японской

n	***f***	$\bar{x}$	s^2	**S**	$S_{\bar{X}}$	**P,%**	**t(P,f)**	Δx	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$,%	**E,%**
11	10	5,47	0,0123	0,1108	0,0334	95,0	2,23	±0,25	±0,07	±1,36	±4,51

Определено, что содержание софорикозида в плодах софоры японской варьирует от 5,45±0,22% до 6,67±0,25%, что позволило обосновать числовой показатель для данного сырья - нижний предел содержания «не менее 5,0%».

8. Результаты изучения диуретической и нейротропной активности густого экстракта плодов софоры японской и индивидуальных веществ.

При однократном внутрижелудочном введении густого экстракта софоры японской в дозе 10 мг/кг отмечалось достоверное повышение двигательной активности опытных животных относительно водного контроля до 202% ($p < 0,05$) что свидетельствует о наличии антидепрессантной активности у экспериментального препарата.

При однократном внутрижелудочном введении кемпферол-3-*О*-софоросида из плодов софоры японской в дозе 1 мг/кг отмечалось достоверное повышение двигательной активности опытных животных относительно водного контроля до 144% ($p < 0,05$) (табл. 30), что свидетельствует о наличии антидепрессантной активности.

Достоверной диуретической активности у густого экстракта плодов софоры японской, софорикозида и кемпферол-3-*О*-софоросида не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного фармакогностического исследования бутонов и плодов софоры японской (*Sophora japonica* L.) позволили сделать следующие общие выводы:

1. В результате морфолого-анатомического исследования бутонов софоры японской методом световой микроскопии выявлены ранее не описанные признаки, имеющие диагностическое значение в определении видовой специфичности софоры японской, а именно: поверхности тычиночных нитей голые, в структуре заметны клетки паренхимы с кристаллическими включениями бурого цвета; густое опушение поверхности гинецея бичевидными волосками с бурой пигментацией протопласта, - которые внесены в раздел «Идентификация» проекта фармакопейной статьи «Софоры японской бутоны».

2. С использованием методов световой, люминесцентной и поляризационной микроскопии при исследования гистологических срезов плодов софоры японской впервые выявлены такие морфолого-анатомические особенности строения, как энциклоцитный тип устьичного аппарата, ладьевидные замыкающие клетки устьичного аппарата, коллатеральный и пара коллатеральных бобовидной формы проводящих пучков в области спинки и брюшного шва боба, кристаллическая обкладка тканей вокруг коллатеральных пучков, люминесценция тканей боба и семени в диапазоне возбуждения 330-400 нм и 420-530 нм, наличие поверхностного адаптационного слоя воска на створках боба, наличие крахмальных зерен в устьичном аппарате, отсутствие слизи в паренхиме семени, наличие капель жира в паренхиме семени, аморфные скопления кристаллоидов флавоноидов,склереиды кожуры семени. Выявленные признаки внесены в раздел «Идентификация» проекта дополнений фармакопейной статьи «Софоры японской

плоды».

3. В результате проведенных фитохимических исследований из плодов софоры японской выделены и изучены с использованием данных УФ-, ^{1}H-ЯМР-, ^{13}C-ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, а также результатов химических превращений (кислотный и ферментативный гидролиз) 6 флавоноидов, среди которых 4′-*O*-α-L-рамнопиранозид генистеина) и 4’-*O*-рутинозид генистеина [генистеин-4’-*O*-(6″-α-L-рамнопиранозил)-β-D-глюкопиранозида] являются новыми природными соединениями.

4. Разработана методика ТСХ-анализа бутонов софоры японской с применением стандартных образцов рутина и кверцетина в системе растворителей *н*-бутанол - уксусная кислота – вода (4:1:2) с идентификацией в УФ-свете при длине волны 254 нм и 365 нм. Методика включена в раздел «Идентификация» подраздел «Определение основных групп биологически активных веществ» проекта фармакопейной статьи «Софоры японской бутоны».

5. Разработана методика ТСХ-анализа плодов софоры японской с применением стандартных образцов софорикозида и кемпферол-3-*O*-софорозида в системе растворителей *н*-бутанол - уксусная кислота - вода (4:1:2) с идентификацией в УФ-свете при длине волны 254 нм и 365 нм. Методика включена в проект дополнений к фармакопейной статье «Софоры японской плоды» в разделе «Идентификация» подраздел «Определение основных групп биологически активных веществ».

6. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов бутонов софоры японской методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 414 нм в пересчете на рутин. Определено, что сумма флавоноидов в пересчете на рутин в бутонах софоры японской варьирует от 16,12±1,33% до 22,37±1,33%, что позволило обосновать нижний предел содержания флавоноидов в бутонах - «не менее 16,0%».

7. Разработана методика количественного определения рутина в бутонах софоры японской методом ВЭЖХ в изократическом режиме. Определено, что содержание рутина в образцах бутонов софоры японской различных регионов Российской Федерации варьирует от 10,96±0,40 % до 15,20±0,51 %, что позволило обосновать числовой показатель для данного сырья - нижний предел содержания рутина «не менее 10,0%».

8. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов плодов софоры японской методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 400 нм в пересчете на цинарозид. Определено, что сумма флавоноидов в пересчете на цинарозид в плодах софоры японской варьирует от 8,52±0,21% до 13,45±0,33% что позволило обосновать числовой показатель для данного сырья - нижний предел содержания флавоноидов «не менее 8,0 %»

9. Разработана методика количественного определения содержания софорикозида в плодах софоры японской методом ВЭЖХ в градиентном режиме. Определено, что содержание софорикозида в плодах софоры японской варьирует от 5,45±0,22% до 6,67±0,25%, что позволило обосновать числовой показатель для данного сырья - нижний предел содержания «не менее 5,0%».

10. Обнаружено выраженное антидепрессантное действие) кемпферол-3-*O*-софорозида и густого экстракта плодов софоры японской, которые повышают двигательную активность животных (по сравнению с контрольными группами) соответственно до 144% и до 202%.

11. Разработан проект фармакопейной статьи «Софоры японской бутоны» для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации.

12. Разработан проект дополнений к разделам «Определегие» «Идентификация» и «Количественное определение» ФС.2.5.0130 «Софоры японской плоды» для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации.

Практические рекомендации. Результаты диссертационной работы способствуют совершенствованию подходов стандартизации ЛРС, содержащего флавоноиды, могут быть использованы в организации образовательного процесса по дисциплинам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия», а также в организациях, принимающих участие в создании, стандартизации, сертификации и проведении контроля качества ЛС и ЛП.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Проведенное фармакогностическое исследование бутонов и плодов софоры японской позволит внедрить это ценное ЛРС в фармацевтическую практику. Результаты исследований бутонов и плодов софоры японской могут быть использованы при разработке подходов стандартизации других видов лекарственного растительного сырья.

СПИСОК СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Куркин, В.А. Флавоноиды плодов софоры японской (*Sophora japonica* L.) / В.А. Куркин, М.К. Чередник [Электронный ресурс] // **Фармация**, 2026; 75 (1): 5–11. https://doi.org/10.29296/25419218-2026-01-01. https://elibrary.ru/yomkpc

2. Куркин, В.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в плодах софоры японской [Текст] / В.А. Куркин, М.К. Чередник // **Химия растительного сырья**. - 2025. - № 3. - С. 157-166.

3. Чередник, М.К. Стандартизация бутонов софоры японской (*Sophora japonica* L.) [Текст] / М.К. Чередник, В.А. Куркин, А.Р. Мубинов // **Химия растительного сырья**. - 2025. - № 4. - С. 279-290.

4. Cherednik, M.K. HPLC determination of sophoricoside content in japanese sophora fruit [Текст] / M.K. Cherednik, V.A. Kurkin, A.A. Andreev // **Pharmaceutical Chemistry Journal**. - 2025. - Т. 59. № 8. - С. 888-893.

5. Kurkin, V.A. HPLC determination of rutin content in japanese sophora buds [Текст] / V.A. Kurkin, M.K. Cherednik // **Pharmaceutical Chemistry Journal**. - 2025. - Т. 59. № 5. - С. 563-569.

6. Куркин, В.А. Определение содержания рутина в бутонах софоры японской методом ВЭЖХ [Текст] / В.А. Куркин, М.К. Чередник // - Химико-фармацевтический журнал. - 2025. - Т. 59, № 5. - С. 39-44.

7. Чередник, М.К. Определение содержания софорикозида в плодах софоры японской методом ВЭЖХ / М.К. Чередник, В.А. Куркин, А.А. Андреев // Химико-фармацевтический журнал. - 2025. - Т. 59, № 8. - С. 42-47.

8. Чередник, М.К. Методика определения подлинности плодов софоры японской / М.К. Чередник // Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики. Материалы V Международной научно-практической конференции, посвящённой 45-летию фармацевтического факультета. - Кемерово. - 2024. - стр. 426-429.

9. Чередник, М.К. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья (софоры японской плоды) и (софоры японской бутоны) / М.К. Чередник, В.А. Куркин // 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: Самарский государственный медицинский университет, ООО "Полиграфическое объединение "Стандарт", 2024. – С. 217–220.

10. Чередник, М.К. Современные аспекты морфолого-анатомического анализа плодов софоры японской / М.К. Чередник, В.А. Куркин, В.М. Рыжов, А.В. Жданова // Современные проблемы фармации. Сборник научных трудов IV Научно-практической онлайн-конференции с международным участием, посвященная 95-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, профессора А.А. Лебедева и 70-летию со дня рождения заслуженного работника высшей школы РФ, профессора В.А. Егорова. - Самара. – 2025. – С. 154-156 - Электронные материалы конференции https://t.me/MOD_PRO_PHARM (дата обращения: 20.12.2025).

11. Чередник, М.К. Количественное определение суммы флавоноидов в плодах софоры японской (*Sophora japonica* L.) / М.К. Чередник, В.А. Куркин // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы докладов XII Всероссийского симпозиума с международным участием . М.: ИФР РАН, 2025. – М.: Издательство «Перо», 2025. – С. 135. - [Электронное издание]. ISBN 978-5-00270-203-9 (дата обращения: 10.12.2025).

12. Чередник, М.К. Морфолого-анатомическое исследование плодов софоры японской / М.К. Чередник, В.А. Куркин // Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарств – приоритетное направление развития фармацевтической науки»: Сборник материалов – Пермь, ПГФА. - 2025. – С. 193-198.

Патенты

1. Патент № 2850387 Российская Федерация. Методика количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской: № 2025115920 : заявл. 09.06.2025 : опубл. 11.11.2025 / М.К. Чередник, В.А. Куркин; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 6с.

2. Способ идентификации бутонов софоры японской : № 2025116034 заявл. 10.06.2025 : опубл. 11.11.2025 / М.К. Чередник, В.А. Куркин; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 6с. (Получено решение о выдаче патента).

3. Способ количественного определения рутина в бутонах софоры японской методом ВЭЖХ : № 2025116054 заявл. 10.06.2025 : опубл. 11.11.2025 / М.К. Чередник, В.А. Куркин; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 6с. (Получено решение о выдаче патента).

4. Способ применения кемпферол-3-*0*-софорозида в качестве антидепрессантного средства : № 2025135893 заявл. 15.12.2025 / М.К. Чередник, В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, и др.; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 6с.