

*На правах рукописи*

**ХАСАНОВА СВЕТЛАНА РАШИТОВНА**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ  
СОЗДАНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ  
РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ С АНТИОКСИДАНТНОЙ  
АКТИВНОСТЬЮ**

**14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия**

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

Самара - 2016

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный консультант:**

доктор фармацевтических наук, профессор **Кудашкина Наталья Владимировна**

**Официальные оппоненты:**

**Бубенчикова Валентина Николаевна**, доктор фармацевтических наук, профессор, государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии и ботаники, заведующий кафедрой

**Ханина Миниса Абдуллаевна**, доктор фармацевтических наук, профессор, государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет», кафедра химии, и.о. заведующего кафедрой

**Курбатова Светлана Викторовна**, доктор химических наук, профессор, государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, кафедра физической химии и хроматографии, профессор кафедры

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

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 201\_ г. в 1\_00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.085.06 при государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б).

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

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 201\_ г

**Ученый секретарь диссертационного совета,**

кандидат фармацевтических наук, доцент

**Петрухина Ирина Константиновна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** В настоящее время большое внимание уделяется исследованию антиоксидантных свойств лекарственного растительного сырья и препаратов на их основе. Одной из изученных групп растительных антиоксидантов являются полифенольные соединения. Наиболее исследованы антиоксидантные свойства флавоноидов, которыми и объясняется широкий спектр их биологического действия. В связи с перспективами использования данного класса соединений, наблюдается значительный интерес к исследованию их биологических свойств (Самылина И.А. и др., 1988, 1990; Куркин В.А. и др., 2008; Корулькин Д.Ю. и др., 2011). Доказано, что флавоноиды являются «ловушками» свободных радикалов и предотвращают перекисное окисление липидов. Также флавоноиды способны активировать природные механизмы клеточной защиты от окислительного стресса через экспрессию внутриклеточных ферментов. Исследованы взаимосвязи антиоксидантных свойств и строение флавоноидных структур. Экспериментальные данные свидетельствуют о корреляции между антиоксидантным действием и количеством фенольных гидроксильных групп в их молекулах. На основании многочисленных экспериментальных исследований установлено антиоксидантное действие более 50 выделенных флавоноидов (Корулькин Д.Ю. и др., 2011; Рогинский В.А., 1988; Тараховский Ю.С. и др., 2013). Однако, низкая биодоступность большинства флавоноидных соединений затрудняет их использование в чистом виде (Wang et al., 2009).

Среди наиболее изученных на сегодняшний день свободнорадикальных патологий являются заболевания сердечно-сосудистой системы, которые по данным Всемирной организации здравоохранения занимают одно из ведущих мест по распространенности и первое место по числу смертности среди населения (Бойцов С.А. и др., 2013; [www.who.int.ru](http://www.who.int.ru)). Имеющийся клинический опыт и результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о важной роли оксидантного стресса в формировании и прогрессировании сердечно-сосудистой патологии, необходимости ранней, планомерной и комплексной антиоксидантной коррекции (Голиков А.П. и др., 2003; 2004; Hertog, M.G. et al., 1993).

Результаты отечественных и зарубежных научных работ доказывают целесообразность использования растительных антиоксидантных препаратов в

комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний (Ивашев М.Н. и др., 2005; Плотников М.Б., 2002; Ahlemeyer B., 2001; Clark W.L., 2001; Rabiei Kh., 2012).

Расширение ассортимента антиоксидантных лекарственных средств на основе отечественной растительной сырьевой базы является одной из актуальных задач современной фармации. Возможным решением данной задачи является внедрение в практику новых сборов и новых видов лекарственного растительного сырья уже изученных растений. Одним из таких видов являются листья боярышника кроваво-красного. Лекарственные препараты из листьев боярышника существуют на отечественном фармацевтическом рынке ([www.grls.rosminzdrav.ru](http://www.grls.rosminzdrav.ru)), однако нормативной документации на этот вид сырья отсутствует.

Таким образом, создание методологических подходов к разработке комплексных фитопрепаратов с антиоксидантной активностью для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний является актуальным.

**Степень разработанности проблемы.** К настоящему времени опубликовано достаточно большое количество отечественных и зарубежных фундаментальных исследований, посвященных вопросам распространенности ССЗ и использованию антиоксидантов в их терапии (Чучалин А.Г., Бойцов С.А., Скворцова В.И., Верещагин Н.В., Суслина З.А., Гусев Е.И., Акимов А.Г., Богословская Е.Н., Сумин С.А., Полумисков В.Ю., Букин А.К., Голиков А.П., Михин В.П., Ашихмин Я.И., Инчина И.В., Смирнов М.Д., Котляров А.А., Косарев В.В., Tinkel J., Aroga A., Clark. W.L. и др.). В последнее десятилетие учеными повышенное внимание уделялось исследованию природных антиоксидантов (Кучин А.В., Дорожко А.И., Полосьянц О.Б., Васильева О.В., Сазонова Т.Г., Vors W., Cao G., Hu B., Rice-Evans C.A., Ahlemeyer B., Yunker V., Nuhne R., Kueglstein и др.). Вопросам использования лекарственного растительного сырья и препаратами на их основе при данной патологии посвятили свои научные исследования Ангарская М.А., Анцишкина М.А., Барнаулов О.Д., Евдокимова О.В., Корсун В.Ф., Куркин В.А., Лазуко С.С., Красильников А.А., Хуткина Г.А., Марьин А.А., Пастушенков Л.В., Лесиовская Е.Е., Кашникова М.В., Сафонова М.Ю., Саканян Е.И., Хаятулла Н.М., Чистяков А.Г. и др.

Теоретическую основу диссертационного исследования составляют труды ученых, рассматривающих вопросы разработки новых лекарственных сборов, в

частности таких, как Пашинский В.Г., Соколов С.Я., Корсун В.Ф., Барнаулов О.Д., Куркин В.А., Самылина И.А., Лесиовская Е.Е. и др.

Проблемам фармакогностического исследования новых видов лекарственного растительного сырья и средств растительного происхождения посвятили научные работы такие отечественные авторы, как Самылина И.А., Куркин В.А., Фурса Н.С., Челомбитько В.А., Плеханова Т.И., Ханина М.А., Бубенчикова В.Н., Даргаева Т.Д., Багирова В.Л., Беликов В.В., Георгиевский В.П., Гончаров Н.Ф., Потанина О.Г., Киселева Т.Л. и др.

Разработка методов стандартизации ЛРС и фитопрепаратов на их основе отражена в работах известных отечественных авторов (Самылина И.А., Куркин В.А., Саканян Е.И., Киселева Т.Л., Сорокина А.А., Бубенчикова В.Н. и др.).

Анализ монографий и периодической литературы по теме диссертации показал, что научные публикации по вопросам разработки фитопрепаратов на основе природных антиоксидантов из лекарственных растений и многокомпонентных сборов практически отсутствуют, а отдельные проблемы рассматривали Ивашев М.Н., Плотников М.Б., работы которых не ставят целью проведение ее комплексного анализа и не позволяют сформировать системно-целостное представление о проблеме исследования. Вместе с тем, современные условия предполагают разработку новых научных подходов к созданию новых фитопрепаратов.

Таким образом, недостаточная степень научной разработанности проблемы, несомненная практическая значимость для отечественной фармации и медицины обусловили выбор темы диссертационного исследования и определили его цель.

**Цели и задачи.** Целью диссертационной работы явилось теоретическое и экспериментальное обоснование создания и стандартизации лекарственных растительных средств с антиоксидантной активностью для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Для решения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- обобщить современные данные по использованию антиоксидантов, разработке препаратов на основе природных антиоксидантов лекарственных растений, исследованию химического состава и фармакологических свойств различных видов сырья боярышника;

- разработать методологические подходы к созданию растительных препаратов с антиоксидантной активностью на основе лекарственного растительного сырья;
- провести скрининг по выявлению антиоксидантных свойств лекарственного растительного сырья для разработки сборов для профилактики и комплексного лечения сердечно-сосудистых заболеваний;
- провести морфолого-анатомическое исследование нового вида лекарственного растительного сырья - листьев боярышника кроваво-красного из флоры Республики Башкортостан;
- провести изучение химического состава листьев боярышника кроваво-красного;
- провести комплексное фармакогностическое исследование разработанных сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»;
- определить критерии подлинности и качества сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного, необходимые для стандартизации, и разработать методики качественного и количественного анализа;
- провести технологические исследования по разработке лекарственных форм на основе сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного;
- изучить токсико-фармакологические свойства сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного;
- разработать проекты нормативной документации – проект ФС на листья боярышника кроваво-красного и проекты ФСП на сборы «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и лекарственные формы на их основе.

**Научная новизна.** Разработаны методологические подходы к созданию новых растительных средств на основе природных антиоксидантов для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Проведен фармакологический скрининг антиоксидантной активности 25 видов лекарственного растительного сырья и 145 различных сочетаний на их основе. Теоретически и экспериментально обоснованы составы двух новых сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК». Проведено комплексное фармакогностическое изучение сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного.

С использованием современных физико-химических методов анализа (ВЭТСХ, ГХ/МС, ВЭЖХ, ЯМР-, УФ- и ИК-спектроскопия) изучен компонентный состав биологически активных веществ листьев боярышника кроваво-красного и идентифицировано 70 соединений различной природы. С использованием колоночной хроматографии из листьев боярышника кроваво-красного выделено и с применением ЯМР-, ИК-, УФ-спектроскопии установлена структура 17 фенольных веществ. Впервые в листьях боярышника кроваво-красного обнаружены изовитексин, физетин, дигидрокверцетин, нарингин, гесперидин, кофейная и хлорогеновая кислоты. В листьях боярышника кроваво-красного методом ВЭЖХ идентифицированы 5 флавоноидов, из которых впервые байкалеин. Методом ГХ/МС в листьях боярышника кроваво-красного впервые идентифицированы 6 веществ, 4 из них - соединения фенольной природы: кумаран,  $\alpha$ -гидрохинон, пирокатехин и хинная кислота. Изучен компонентный состав эфирного масла листьев боярышника кроваво-красного и идентифицировано 18 соединений. В липофильной фракции листьев боярышника кроваво-красного идентифицированы 19 веществ. Впервые методами ВЭЖХ и ГЖХ установлен состав полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного.

Изучена динамика накопления основных групп БАВ листьев боярышника кроваво-красного в различные фазы вегетации растения и определены сроки их заготовки.

Исследован химический состав сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного с использованием фитохимических, хроматографических (тонкослойная хроматография (ТСХ) и высокоэффективная тонкослойная хроматография (ВЭТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография с масс-спектрометрией (ГХ/МС), спектроскопических методов анализа (спектроскопия ядерно-магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопия), УФ- и ИК-спектроскопия). В сборах «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьях боярышника кроваво-красного установлено содержание флавоноидов, органических кислот, кумаринов, суммы дубильных соединений, сапонинов, аскорбиновой кислоты, полисахаридов, каротиноидов, эфирных масел, аминокислот, макро- и микроэлементов.

Изучены морфолого-анатомические признаки сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного и установлены ди-

агностически-значимые признаки (ДЗП), которые предложены в качестве критерия стандартизации. При проведении микроскопического исследования листьев боярышника выявлены новые анатомо-диагностические признаки. Впервые проведено морфолого-анатомическое исследование черешка и прилистников боярышника кроваво-красного.

Разработаны критерии подлинности и показатели качества сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного и проведена их стандартизация.

Изучена острая токсичность разработанных сборов и листьев боярышника кроваво-красного и установлено, что они относятся к 4 классу «Вещества малотоксичные». В ходе фармакологических исследований впервые установлены антиоксидантные, кардиотропные, антикоагулянтные, антиагрегантные, антигипоксические свойства сбора «Кардиофит-ИБС»; антиоксидантные, антикоагулянтные, антиагрегантные, антигипоксические свойства сбора «Ангиофит-НМК»; антиоксидантные, кардиотропные, антиаритмические свойства листьев боярышника кроваво-красного.

Исследованы оптимальные условия получения водных извлечений из сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК». Изучены оптимальные условия и разработана технология получения жидких экстрактов из сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и густого экстракта из листьев боярышника кроваво-красного.

Приоритет и новизна исследований подтверждена тремя патентами: «Сбор лекарственных растений для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообращения» (патент № 2338550); «Сбор лекарственных растений для профилактики и лечения ишемической болезни сердца» (патент № 2416424); «Способ местного лечения и профилактики основных стоматологических заболеваний у лиц пожилого и старческого возраста с применением жевательного субстрата» (патент № 2521373).

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты проведенных исследований позволили создать методологическую базу для совершенствования подходов к разработке новых растительных средств, а также расширить возможности целенаправленного поиска новых сырьевых источников получения эффективных отечественных антиоксидантных фитопрепаратов для использования в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Разработаны критерии подлинности и показатели качества сборов и листьев боярышника кроваво-красного, необходимые для их стандартизации.

Разработаны методики анализа: методика качественного анализа методом ТСХ, методика определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в листьях боярышника кроваво-красного, сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»; методика качества сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» по количественной оценке проявляемости анатомических диагностически-значимых признаков.

Проведенные исследования позволили обосновать возможность расширения отечественной номенклатуры официального сырья - листьев боярышника кроваво-красного и сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК». Результаты фармакологических испытаний подтвердили целесообразность разработанных методологических подходов к созданию новых растительных лекарственных средств для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

**Внедрение в практику.** На основании проведенных исследований разработаны:

- Проект фармакопейной статьи предприятия «Сбор «Кардиофит-ИБС»;
- Проект фармакопейной статьи предприятия «Сбор «Ангиофит-НМК»;
- Проект фармакопейной статьи предприятия «Жидкий экстракт из сбора «Кардиофит-ИБС»;
- Проект фармакопейной статьи предприятия «Жидкий экстракт из сбора «Ангиофит-НМК»;
- Проект фармакопейной статьи предприятия «Густой экстракт боярышника кроваво-красного листьев»;
- Проект фармакопейной статьи предприятия «Боярышника кроваво-красного листа» (проходит экспертизу в ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России с целью включения в Государственную Фармакопею XIII издания);
- Инструкция по сбору и сушке листьев боярышника кроваво-красного.

Результаты исследований включены в монографии С.Р. Хасановой, Н.В. Кудашкиной [и др.] «Фитотерапия артериальной гипертензии» (2009), С.Р. Хасановой, Н.В. Кудашкиной [и др.] «Фитотерапия в гинекологии» (2008), С.Р. Хасановой, Н.В. Кудашкиной [и др.] «Фитотерапия инфекционных заболеваний»

(2009), С.Р. Хасановой, Н.В. Кудашкиной [и др.] «Фитотерапия в урологии» (2011).

Результаты диссертации внедрены в работу ГКУЗ Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств Республики Башкортостан, ООО «Травы Башкирии», ООО «Фитоцентр Гордеева», в учебный процесс кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России.

**Методология и методы исследований.** Методология построена на информационном поиске и анализе литературных данных по выбору перспективных объектов лекарственных растений, содержащих в качестве основных действующих веществ - биологические активные соединения – антиоксиданты, на основе которых после проведения скрининга антиоксидантной активности выбраны перспективные виды лекарственного растительного сырья; оценке изученности их химического состава, ресурсного потенциала, использования в научной и народной медицине; постановке цели и задач по разработке природных антиоксидантов на основе выбранных лекарственных растений и разработанных на их основе многокомпонентных сборов при сердечно-сосудистых заболеваниях; целенаправленном изучении их химического состава и фармакологических свойств; разработке НД на новые виды ЛРС, сборы; разработке фитопрепаратов и параметров их стандартизации; формулировании выводов, определяющих теоретические и практические рекомендации материалов диссертационной работы.

В качестве основных методов физического, химического и физико-химического анализа использованы методы БХ, ТСХ, ВЭТСХ, ВЭЖХ, ГЖХ, ЯМР-, УФ-, ИК-, хромато-масс-спектрографии, спектрофотометрии, титриметрии, гравиметрии. Анатомические исследования проводились с применением микроскопов «Минимед-501» и «Микровизор» с вмонтированной цифровой камерой.

#### **Положения, выносимые на защиту**

- Результаты теоретического и экспериментального обоснования сбора «Кардиофит-ИБС» для профилактики и лечения ишемической болезни сердца и сбора «Ангиофит-НМК» для профилактики и лечения нарушений мозгово-

го кровообращения; результаты скрининга антиоксидантной активности различных видов лекарственного растительного сырья;

- результаты морфолого-анатомического исследования разработанных сборов и листьев боярышника кроваво-красного;
- результаты изучения химического состава сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного;
- исследования по разработке методик стандартизации исследуемых сборов и листьев боярышника кроваво-красного;
- результаты исследования биологической активности сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного по выявлению специфической активности;
- результаты фитохимических и технологических исследований по выбору лекарственной формы на основе разработанных сборов и листьев боярышника кроваво-красного.

**Степень достоверности.** Степень достоверности результатов исследований определяется достаточным объёмом выборок исследования. Для обработки результатов исследований использованы методы статистической обработки, что соответствует поставленным задачам. Статистическую обработку полученных результатов проводили стандартными методами вариационной статистики с применением программ «Excel 7.0», «Statistica 5.0», «Statistica 6.0». Для отрицания «нулевой» гипотезы использовали U-тест Манна-Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми при  $P < 0,05$ . Достоверность различий между выборками определялась по параметрическому t-критерию Стьюдента и непараметрическому U-критерию Манна - Уитни. Для разработанных методик стандартизации растительных средств проведена валидация. Выводы, сформулированные в диссертации, аргументированы и логически вытекают из результатов многоуровневого анализа значительного объёма выборок и результатов выполненных фармакогностических, технологических и фармакологических исследований.

**Апробация результатов.** Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на научной конференции молодых ученых БГМУ (Уфа, 2003г.); научно-практической конференции, посвященной 25-летию фармацевтического факультета «Актуальные вопросы современной фармации и фармацевтического образования» (Уфа, 2006г.); научной конференции студентов и

молодых ученых БГМУ (Уфа, 2007г.); XIV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2007г.), Всероссийской конференции «Химия растительных веществ и органический синтез» (г. Сыктывкар, 2-5 июня 2009 г.), Российском национальном конгрессе кардиологов «Кардиология: реалии и перспективы» (г. Москва, 2009 г.), 74-й Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной Году молодежи в России и Году поддержки и развития молодежных инициатив в РБ (г. Уфа, 2009 г.), «Научный прорыв-2009», посвященной Году поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Республики (г. Уфа, 2009 г.), Республиканской конференции молодых ученых Республики Башкортостан с международным участием «Медицинская наука - 2009», посвященной Году поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Медицинского работника (г. Уфа, 2009 г.), Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной Году молодежи в России и Году поддержки и развития молодежных инициатив в РБ (г. Уфа, 2009 г.), конкурсе работ молодых ученых по программе «У.М.Н.И.К.» (г. Уфа, 2009 г.), Российской научно-практической конференции «Создание лекарственных средств на основе продуктов природного происхождения» (г. Пермь, 2010 г.), научно-методической конференции «Гаммермановские чтения - 2011» (г. Санкт-Петербург, 2011 г.), Всероссийской молодежной конференции «Фармакологическая коррекция процессов жизнедеятельности. Доклинические и клинические исследования новых лекарственных препаратов» (г. Уфа, июль 2012 г.), Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Итоги и перспективы молодежной медицинской и фармацевтической науки» (г. Уфа, ноябрь 2012 г.), Всероссийском конгрессе «Человек и лекарство» (г. Москва, апрель 2012 г.), Молодежном форуме Приволжского федерального округа «iВолга-2013» (Самарская область, июнь 2013 г.), Всероссийском конгрессе «Человек и лекарство» (г. Москва, апрель 2014 г.), научной конференции «Вопросы теоретической и практической медицины» (г. Уфа, 23-25 апреля 2014 г.).

**Связь задач исследования с проблемами фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России по проблеме «Изыскание и изучение новых лекарственных средств». Номер госрегистрации 01200507996.

**Публикации.** Основные результаты диссертационного исследования отражены в 59 научных работах, в том числе в 21 статье в журналах, включенных в Перечень ВАК Министерства образования и науки РФ. Получены 3 патента на изобретение, изданы 4 монографии, подготовлены инструктивные письма, акты внедрения.

**Личный вклад автора.** Научные направления, постановка целей и задач, объекты исследования выбраны самим автором. Автор лично участвовал в планировании и проведении экспериментов. Все экспериментальные данные автором получены лично. Автором сформулированы подходы к усовершенствованию разработки новых растительных средств. В работах, выполненных в соавторстве, автором лично проведено научное обоснование и обобщены данные, интерпретированы результаты. Доля автора в сборе, анализе и обобщении результатов является определяющей.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертация соответствует паспорту специальности 14.04.02.- фармацевтическая химия, фармакогнозия.

**Работа представляет итог исследований,** выполненный автором в творческом сотрудничестве с кафедрами фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии, фармацевтической технологии с курсом биотехнологии, фармакологии № 2, микробиологии с курсом иммунологии, лабораторией ЦНИЛ ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, ФГБУ РАН «Институт органической химии УНЦ РАН», кафедрой фармации ФПК и ППС ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (г.Томск), ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет».

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 362 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, 6 экспериментальных глав, общих выводов, списка литературы и приложений. В работе содержатся 87 таблиц, 112 рисунков. Список цитируемой литературы включает 383 библиографических источников, из которых 113 на иностранных языках.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **1. Объекты исследований**

Объектами фармакогностического исследования явились листья боярышника кроваво-красного и 25 видов лекарственного растительного сырья

(ЛРС), на основе которых были разработаны - сбор при нарушении мозгового кровообращения, названный «Ангиофит-НМК» и сбор для профилактики и лечения ишемической болезни сердца, получивший название «Кардиофит-ИБС». Исследования сбора «Кардиофит-ИБС» проводились совместно с Потаниной А.П.

Листья боярышника кроваво-красного (*folia Crataegi sanguineae* Pall.) были собраны в разные фазы вегетации растения в различных районах Республики Башкортостан в течение 2008-2012 годов. В ходе исследования были проанализированы 45 образцов листьев боярышника кроваво-красного, а также 30 образцов цветков и плодов, которые являлись объектами сравнения.

Исследовались настои, отвары, настойки, жидкие и густые экстракты, полученные из сборов и листьев боярышника кроваво-красного.

## **2. Методы исследований**

Анатомические исследования проводились с применением микроскопов «Минимед-501» и «Микровизор» с вмонтированной цифровой камерой.

Исследование химического состава сборов и листьев боярышника кроваво-красного проводили методом ВЭЖХ на хроматографической системе WatersBreeze (Waters, США) со спектрофотометрическим детектором. Колонка с фазой NovaPakC18, 300x3,9 мм, 4 мкм (Waters, США). В качестве подвижной фазы использовали элюент состава вода (В): ацетонитрил (А) в соотношениях 95:5, 70:30, 40:60, 0:100, 95:5. Детектирование проводили при длине волны 275 нм. Полисахариды листьев боярышника кроваво-красного исследовали на жидкостном хроматографе Ultimate 3000 (Германия, «Dionex»). Условия хроматографирования: колонка TSKGMPW<sub>XL</sub>, 300\*78 mm, 13µm, подвижная фаза - вода, скорость потока 1 мл/мин.

Исследование спиртовых извлечений исследуемых объектов, полученных с использованием 95% этилового спирта, хлороформа и гексана (листья боярышника кроваво-красного), проводили методом ГХ/МС с использованием газового хроматографа «Agilent» (США) 6890 N с масс-селективным детектором 5973 при следующих условиях: колонка - капиллярная HP-5M8; температура инжектора - 280°C, интерфейса детектора - 280°C; начальная и конечная температура термостата колонки - 50° и 280°C соответственно; температура колонки изменялась со скоростью 10 град/мин; газ-носитель - гелий; объем вводимой пробы - 1 мкл.

Компонентный состав эфирного масла листьев боярышника кроваво-красного исследовали методом ГХ/МС на хроматографе Finnigan 800, масс-спектрометр высокого разрешения MAT-95XPЭВМ «Delta».

Выделение индивидуальных веществ из листьев боярышника кроваво-красного проводили методом колоночной хроматографии с использованием в качестве сорбента силикагеля Chemapol (L 40/100 мкм) и полиамида Woelm (Германия). Контроль за выделением веществ осуществляли методом ТСХ и УФ-спектроскопии.

Установление структуры выделенных соединений осуществляли измерением ЯМР  $^1\text{H}$ -и  $^{13}\text{C}$ -спектров на импульсном ЯМР-спектрометре BrukerAscend 500, BrukerAvance III, BrukerAMX-300, измерением УФ-спектров на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 и ИК-спектров на спектрофотометре «Инфралуом» ФТ-02, температуры плавления, химических превращений и методом ТСХ в сравнении со стандартными образцами.

Статистическую обработку полученных результатов проводили стандартными методами вариационной статистики с применением программ «Excel 7.0», «Statistica 5.0», «Statistica 6.0» с вычислением граничных значений доверительного интервала среднего результата и определением единичного определения (ГФ СССР XI издания, вып.1, стр.199).

### **3. Теоретическое и экспериментальное обоснование составов сборов**

При составлении прописей сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» исходили из разработанных методологических принципов создания растительных композиций с предполагаемым спектром фармакологической активности (рис.1). Для выбора состава сбора при НМК проведен фармакологический скрининг по определению антиоксидантной активности 18 видов лекарственного растительного сырья и 131 различных сочетаний на их основе с использованием спектрофотометрической методики, основанной на аутоокислении адреналина. Наибольшей антиоксидантной активностью обладала композиция № 135 (АОА – 77%), по нашим предположениям обеспечивающая комплексное воздействие на все патогенетические звенья НМК, так как охватывает все прогнозируемые фармакологические эффекты (плоды боярышника, шиповника, рябины, цветки ромашки, листья мяты перечной, подорожника большого, трава сушеницы топяной, полыни обыкновенной, донника, барвинка малого и корни солодки). Сбор получил название «Ангиофит-НМК».

При разработке сбора для ИБС проведен фармакологический скрининг антиоксидантной и кардиотонической активности выбранных 22 видов ЛРС.



Рисунок 1. Методологическая схема для разработки новых лекарственных растительных средств на основе природных антиоксидантов

Исходя из полученных совокупных данных, были отобраны 9 видов ЛРС. При анализе полученной «матрицы» сбора, оказалось, что в сбор не вошли виды ЛРС, дублирующие друг друга по прогнозируемым видам активности. В сбор последовательно были добавлены дополнительные компоненты и у каждого полученного состава исследована антиоксидантная активность. Наибольшей антиоксидантной активностью обладала композиция № 6 (АОА – 64%), по на-

шим предположениям обеспечивающая комплексное воздействие на все патогенетические звенья ИБС, так как охватывает все прогнозируемые фармакологические эффекты (плоды боярышника, рябины, аронии черноплодной, тмина, листья мяты перечной, земляники, трава мелиссы лекарственной, полыни обыкновенной, пустырника, золототысячника, донника, соплодия хмеля, столбики с рыльцами кукурузы и корневища и корни девясила). Сбор получил название «Кардиофит-ИБС».

#### **4. Морфолого-анатомическое исследование листьев боярышника кроваво-красного**

Для разработки нормативной документации на листья боярышника кроваво-красного проведено их морфолого-анатомическое исследование.

При проведении макроскопического анализа листьев боярышника кроваво-красного уточнены его внешние признаки. Листья боярышника кроваво-красного имеют яйцевидную форму с клиновидным основанием. Впервые описаны внешние признаки прилистников. Они представляют собой по два прилистника серповидной формы с мелкопильчатым краем, цвет прилистников - зеленый с верхней стороны, и светло-зеленый с нижней с перисто-краевым жилкованием и располагаются в месте прикрепления черешка к стеблю.

В ходе микроскопического анализа листьев боярышника кроваво-красного выявлены новые диагностические признаки: четковидные утолщения клеток эпидермиса верхней стороны листа (рис.2), простые волоски, прикрепляющиеся в центре розетки из 5-7 эпидермальных клеток. Розетка клеток, а также окружающие ее клетки эпидермы окрашены в бурый цвет (рис.3). Призматические кристаллы оксалата кальция образуют кристаллоносную обкладку (рис. 4). При исследовании поперечного среза листовой пластинки установлено, что лист имеет дорсовентральное строение (рис.4). Анатомические признаки черешка и прилистников описаны впервые. При рассмотрении поперечного среза черешка листа боярышника кроваво-красного под эпидермисом наружной стороны находятся два ряда уголковой колленхимы, в паренхиме - один коллатеральный пучок серповидной формы. На эпидермисе внутренней стороны встречаются простые одноклеточные волоски (рис. 5). При исследовании прилистников с поверхности обнаружены следующие анатомо-диагностические признаки: клетки верхнего и нижнего эпидермиса - многоугольные, со слабоизвилистой стенкой, с четковидными утолщениями (рис. 5). Кутикула на обеих

сторонах образует складки (рис. 5). Устьица крупные, многочисленные, расположенные на нижней стороне прилистника небольшими группами и окруженные 2-5 околоустьичными клетками (аномоцитный тип) (рис. 5). На верхнем эпидермисе прилистников редко встречаются простые одноклеточные, толстостенные волоски с основанием, погруженным в эпидермис (рис.5). В мезофилле прилистника и вдоль жилок встречаются крупные друзы и кристаллы оксалата кальция в виде кристаллоносной обкладки жилок (рис. 5). На верхушке прилистника, по краю и редко на поверхности встречаются многоклеточные железки с бурым содержимым (рис. 5). С использованием микроскопического анализа предложен метод стандартизации по количественной оценке ДЗП листьев боярышника кроваво-красного.

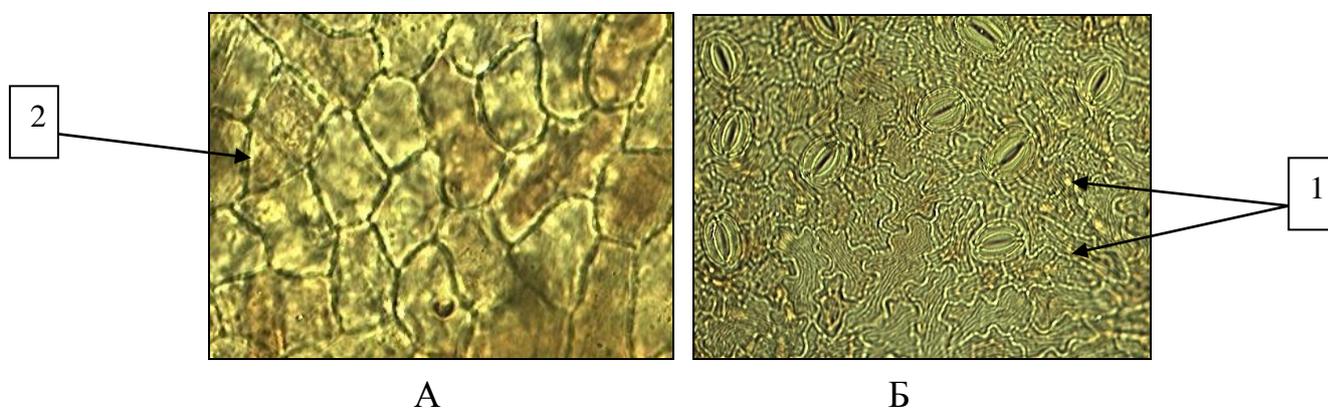


Рисунок 2. Эпидермис листа боярышника кроваво-красного (А - верхний эпидермис, Б – нижний эпидермис, 1 – устьичный аппарат аномоцитного типа, 2 – четковидные утолщения)

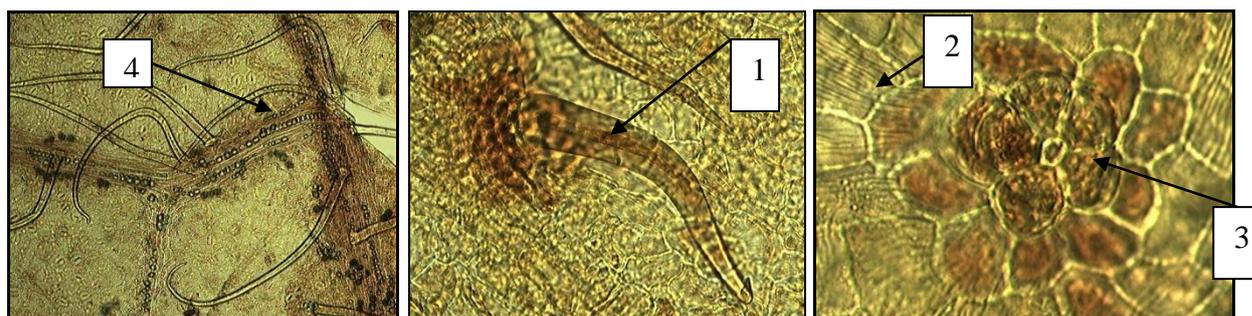


Рисунок 3. Эпидермис верхней стороны листа боярышника кроваво-красного (1 – простой одноклеточный волосок верхнего эпидермиса, 2 – складчатость кутикулы верхней стороны листа, 3 – основание волоска, 4 – кристаллоносная обкладка)

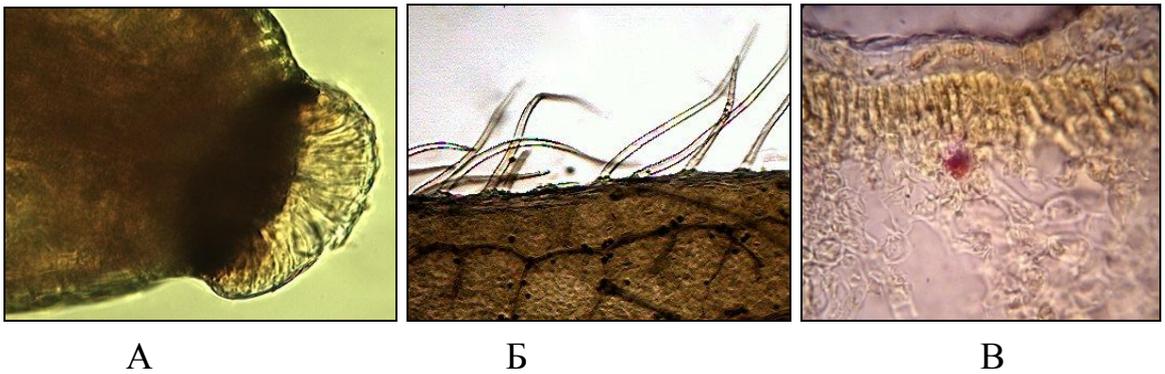
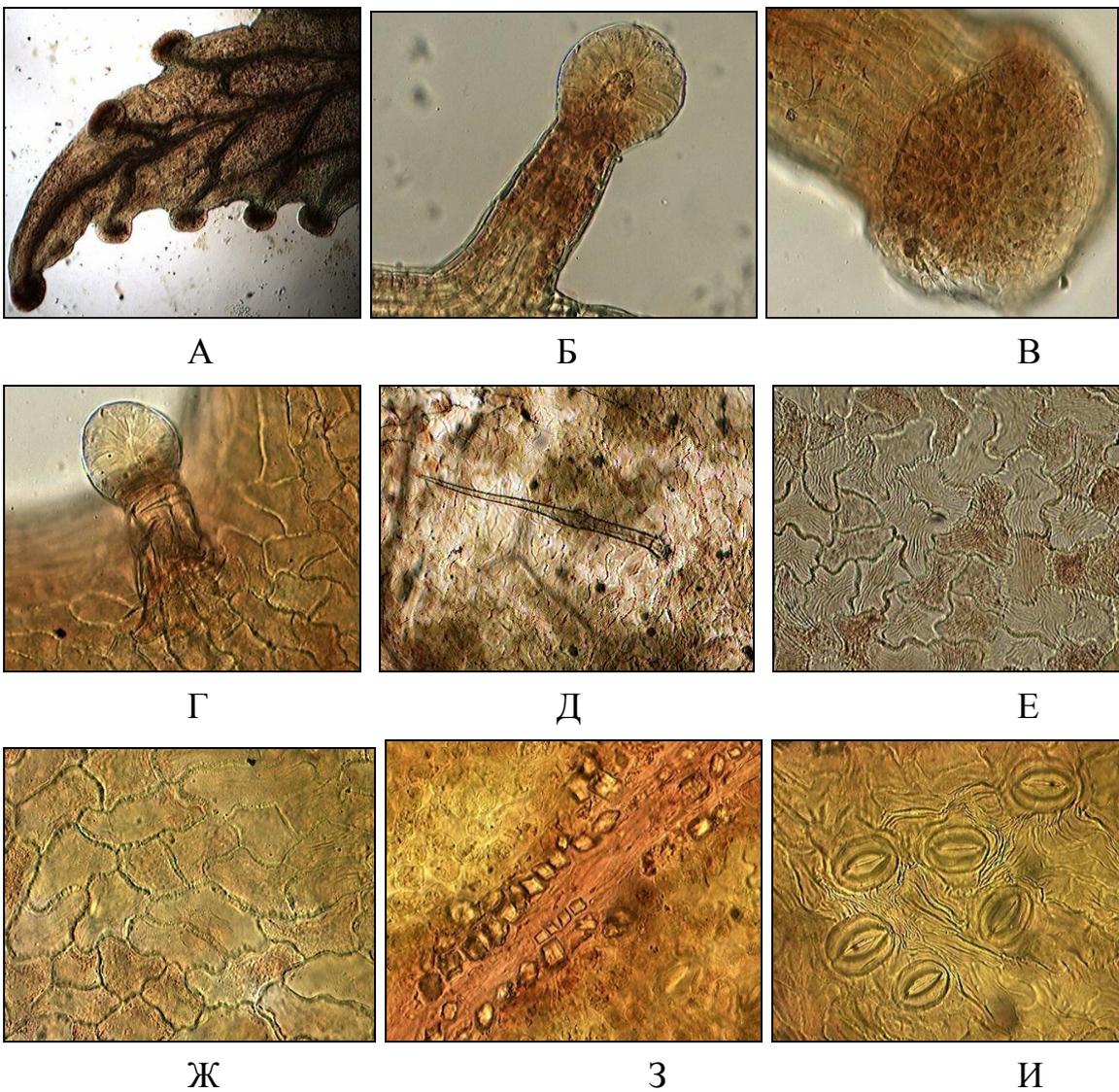


Рисунок 4. Микроскопические признаки листьев боярышника кроваво-красного (А - многоклеточная железка на верхушке зубца листа боярышника кроваво-красного, Б.- край листовой пластинки с простыми волосками, В - поперечный срез листовой пластинки)



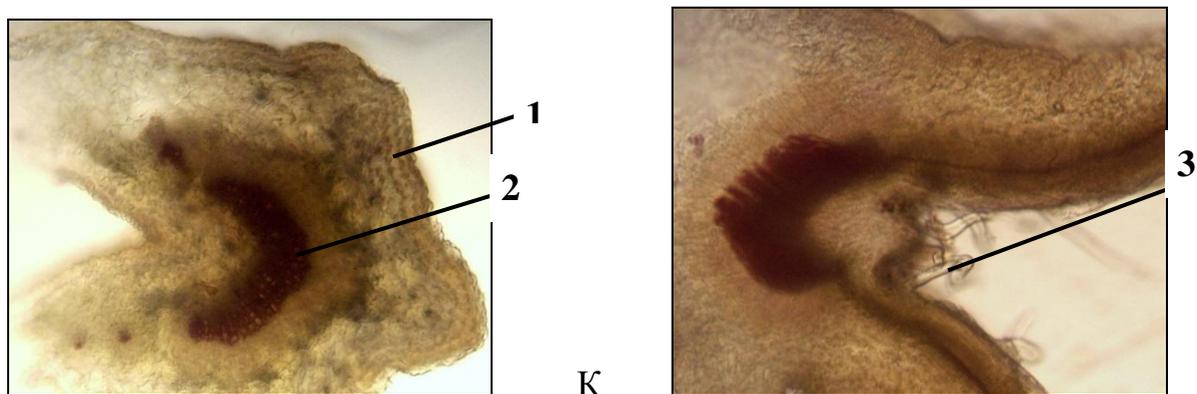


Рисунок 5. Микроскопические признаки прилистника листа боярышника кроваво-красного (А – общий вид, Б - железка на краю прилистника с многоклеточной головкой на многоклеточной ножке), В - поверхность головки железки, Г - железка на поверхности эпидермиса прилистника, Д - одноклеточный простой волосок на верхней стороне прилистника, Е - эпидермис верхней стороны прилистника (складчатость кутикулы), Ж - эпидермис верхней стороны прилистника (четковидные утолщения), З - кристаллоносная обкладка жилки, И - устьица на нижней стороне прилистника, К - поперечный срез черешка (1 – колленхима, 2 – проводящий пучок, 3 - простые волоски на внутренней поверхности)

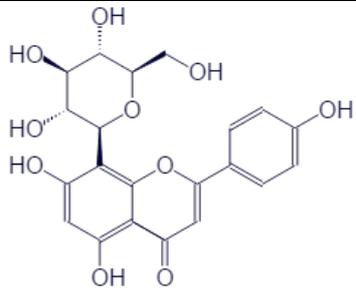
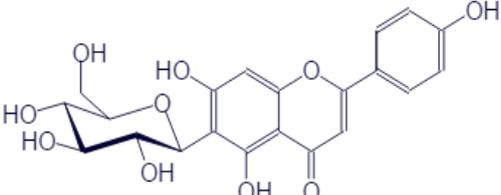
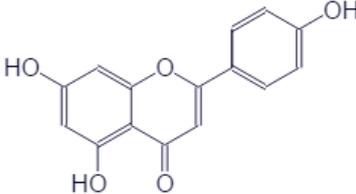
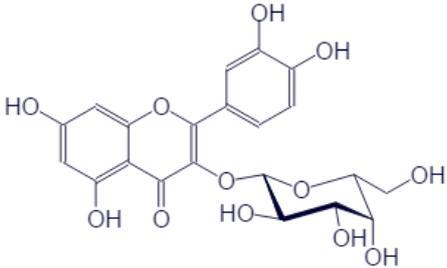
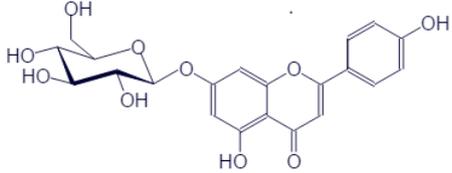
## 5. Исследование химического состава листьев боярышника кроваво-красного

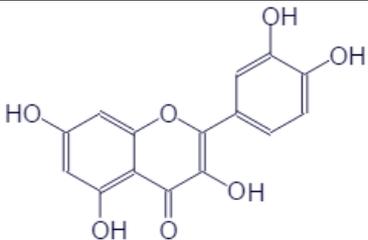
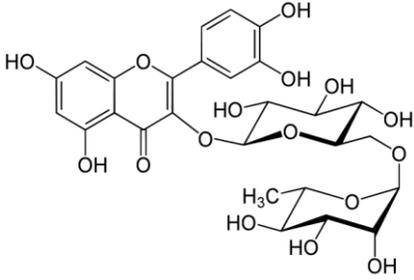
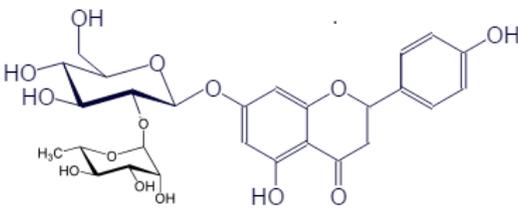
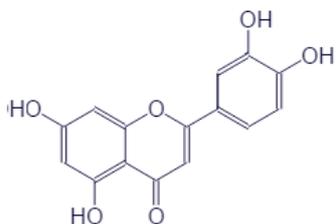
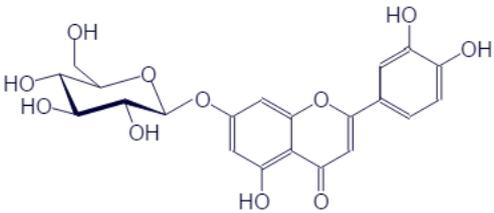
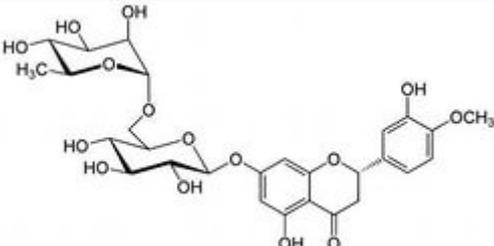
Методами хроматографии (БХ, ТСХ, ВЭТСХ, ВЭЖХ, ГХ/МС), ЯМР-, УФ, ИК-спектроскопии исследован химический состав БАВ листьев боярышника кроваво-красного. Идентифицировано 70 соединений, из которых 21 – фенольной природы, представленных флавоноидами (рутин, гиперозид, кверцетин, физетин, дигидрокверцетин, космосин, витексин, изовитексин, байкалеин, апигенин, нарингин, лютеолин, лютеолин-7-О-гликозид, гесперидин, катехин), простыми фенолами (гидрохинон, пирокатехин), кумаринами (кумаран), полигидроксикарбоновой (хинной) и гидроксикоричными (кофейной, хлорогеновой) кислотами.

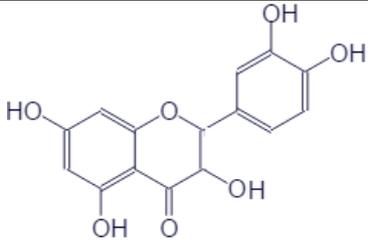
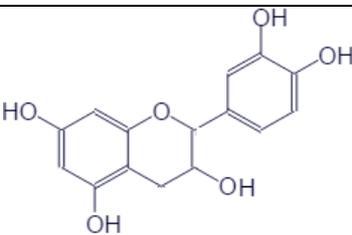
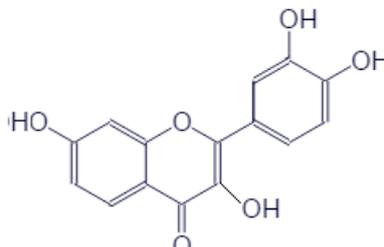
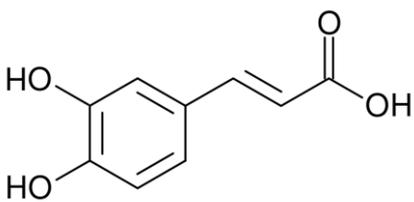
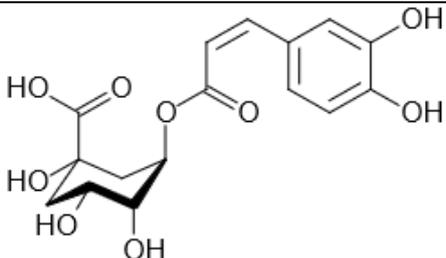
С использованием колоночной хроматографии выделены 17 веществ фенольной природы, спектральные и физико-химические константы, которых приведены в таблице 1.

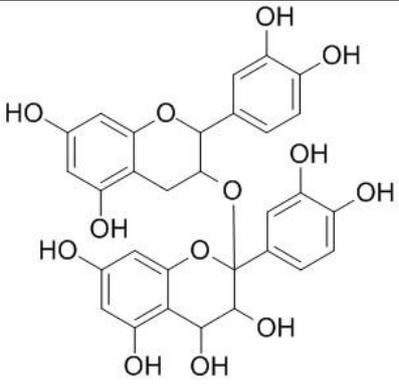
Впервые из листьев боярышника кроваво-красного выделены изовитексин, физетин, дигидрокверцетин, нарингин, гесперидин, кофейная и хлорогеновая кислоты. У выделенных соединений регистрировали ЯМР-спектры и масс-спектры.

Таблица 1- Физико-химические характеристики соединений, выделенных из листьев боярышника кроваво-красного

№п/п	Название, химическая формула	Брутто- формула	$\lambda_{\text{max}}$ (EtOH)нм	Температура плавления
1.	 <p>Витексин</p>	$C_{21}H_{20}O_{10}$	271, 332 +AlCl <sub>3</sub> /HCl: 304, 396	263-265°C
2.	 <p>Изовитексин</p>	$C_{21}H_{20}O_{10}$	271, 336 + AlCl <sub>3</sub> /HCl: 302, 397	265-267°C
3.	 <p>Апигенин</p>	$C_{15}H_{10}O_5$	271, 335 +AlCl <sub>3</sub> /HCl: 278, 382	341-343°C
4.	 <p>Гиперозид</p>	$C_{21}H_{20}O_{12}$	258, 267, 300 <sub>пл</sub> , 363; +AlCl <sub>3</sub> /HCl: 278, 412	238-240°C
5.	 <p>Космосин</p>	$C_{21}H_{20}O_{10}$	272, 336; + AlCl <sub>3</sub> /HCl: 294, 385	227-229°C

6.	 <p>Кверцетин</p>	$C_{15}H_{10}O_7$	255, 281, 370 + $AlCl_3/HCl$ : 292; 422	307-309°C
7.	 <p>Рутин</p>	$C_{27}H_{30}O_{16}$	258, 267, 300пл, 353 + $AlCl_3/HCl$ : 279, 409	194-196°C
8.	 <p>Нарингин</p>	$C_{27}H_{32}O_{14}$	284, 333 + $AlCl_3/HCl$ : 306, 383	173-175°C
9.	 <p>Лютеолин</p>	$C_{15}H_{10}O_6$	255, 267, 294пл, 351 + $AlCl_3/HCl$ : 279, 398	330-332°C
10.	 <p>Лютеолин-7-гликозид</p>	$C_{21}H_{20}O_{11}$	255, 269, 353 + $AlCl_3/HCl$ : 278, 395	247-249°C
11.	 <p>Гесперидин</p>	$C_{28}H_{34}O_{15}$	284, 330 + $AlCl_3/HCl$ : 306, 388	252-254°C

12.	 <p>Дигидрокверцетин</p>	$C_{15}H_{12}O_7$	291, 335 + $AlCl_3/HCl$ : 245, 316, 382	225-227°C
13.	 <p>Катехин</p>	$C_{15}H_{14}O_6$	280	212-215°C
14.	 <p>Физетин</p>	$C_{15}H_{10}O_6$	258, 267, 321, 370 + $AlCl_3/HCl$ : 232, 277, 431	350-352°C
15.	 <p>Кофейная кислота</p>	$C_9H_8O_4$	243, 327 + $AlCl_3/HCl$ : 261, 379	195-197°C
16.	 <p>Хлорогеновая кислота</p>	$C_{16}H_{18}O_9$	281, 328 + $AlCl_3/HCl$ : 279, 395	208-210°C

17.	 <p data-bbox="510 548 702 582">Процианидин</p>	$C_{30}H_{26}O_{13}$	279	-
-----	--	----------------------	-----	---

В ЯМР- $^1\text{H}$ -спектре в ДМСО- $d_6$  выделенного дигидрокверцетина регистрируются дублет дублетов при 4,51 (1H,  $\text{H}^3$ , 6,0 и 11,0 Гц) и синглет при 5,03 (1H,  $\text{H}^2$ ), соответствующие протонам пиринового фрагмента. Сигнал протона гидроксильной группы пиринового цикла наблюдается в виде дублета при 4,59 (1H, 3-OH, 4,7 Гц). Сигналы ароматических протонов регистрируются в виде дублет дублетов при 5,81 (1H,  $\text{H}^8$  аром., 2,0 и 2,0 Гц) и мультиплетов при 5,89 (1H,  $\text{H}^6$  аром.), 6,75 (1H,  $\text{H}^{5'}$  аром.), 6,86 (1H,  $\text{H}^{2'}$  аром.) и синглета при 7,32 (1H,  $\text{H}^{5'}$  аром.). Протоны фенольных гидроксидов регистрируются в виде уширенного сигнала при 9,01-9,08 (2H, 3'-OH, 4'-OH) и синглета при 10,81 (1H, 7-OH). Характерный синглетный сигнал наблюдается при 11,91 (1H, 5-OH), который смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пиринового фрагмента (рис.6).

В ЯМР- $^{13}\text{C}$ -спектре выделенного дигидрокверцетина наблюдаются пятнадцать сигналов: восемь сигналов, соответствующие четвертичным атомам углерода и семь - СН-группам. Регистрируются сигналы при 198,33 ( $\text{C}^4$ ), 163,78 ( $\text{C}^{3'}$ ), 163,27 ( $\text{C}^{4'}$ ), 163,02 ( $\text{C}^{1'}$ ), 146,23 ( $\text{C}^5$ ), 145,39 ( $\text{C}^7$ ), 128,5 ( $\text{C}^9$ ), 100,94 ( $\text{C}^{10}$ ) м.д. и 129,95 ( $\text{C}^2$ ), 119,87( $\text{C}^3$ ), 115,68 ( $\text{C}^{2'}$ ), 96,45 ( $\text{C}^{5'}$ ), 95,44 ( $\text{C}^{6'}$ ), 83,51 ( $\text{C}^6$ ) и 72,02 ( $\text{C}^8$ ) м.д. (рис.7).

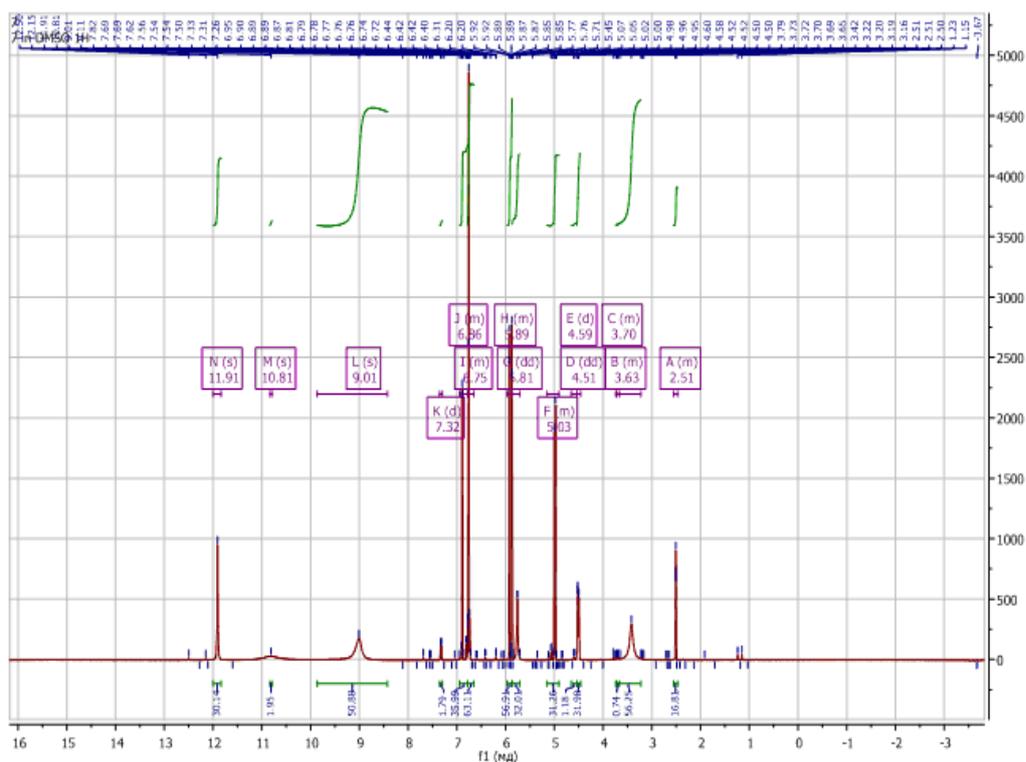


Рисунок 6. ЯМР-<sup>1</sup>H-спектр выделенного дигидрокверцетина

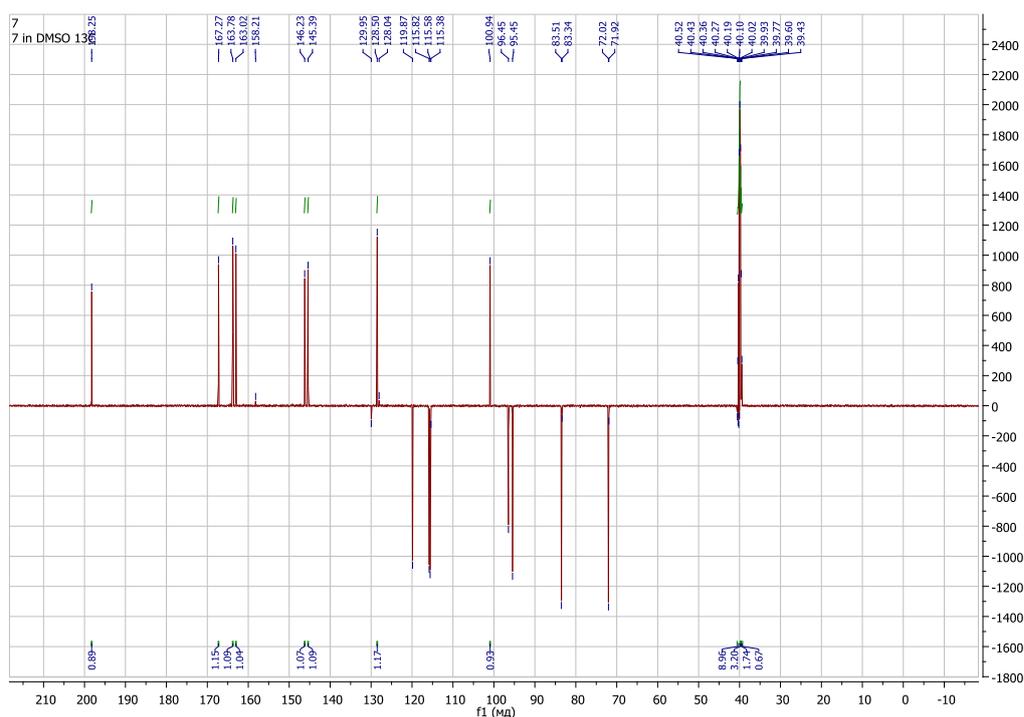


Рисунок 7. ЯМР-<sup>13</sup>C-спектр выделенного дигидрокверцетина

В ЯМР-<sup>1</sup>H-спектре в ДМСО-*d*<sub>6</sub> выделенной кофейной кислоты регистрируются дублетные сигналы при 6,75 (1H, H<sup>6</sup> аром., 10 Гц), при 6,93 (1H, H<sup>5</sup> аром., 9,6 Гц) и синглет при 7,05 (1H, H<sup>2</sup> аром.), принадлежащие протонам аро-

матического цикла, два дублета при 6,2 (1H, H<sup>1</sup> боковой цепи, 10 Гц) и 7,4 (1H, H<sup>2</sup> боковой цепи, 9,1 Гц), принадлежащие двум протонам пропанового фрагмента, и два синглета при 9,13 (1H, 3-ОН), 9,54 (1H, 4-ОН), принадлежащие протонам фенольных гидроксильных групп, синглет при 12,12 (1H, 9-ОН), принадлежащий протону гидроксильной группы, который смещен в слабое поле за счет образования сильносопряженной внутримолекулярной водородной связи с карбонильной группой пропанового фрагмента (рис.8).

ЯМР-<sup>13</sup>C-спектре наблюдаются девять сигналов: четыре сигнала, соответствующие четвертичным атомам углерода и пять - СН-группам. Наиболее слабополярный сигнал 168,5 м.д. принадлежит С<sup>9</sup> атому, сигналы 145 и 121,5 м.д. – С<sup>8</sup> и С<sup>7</sup> атомам пропанового фрагмента, сигналы 148,5 (С<sup>4</sup>), 146 (С<sup>3</sup>), 126 (С<sup>1</sup>), 115 (С<sup>5</sup>), 115,5 (С<sup>6</sup>) и 116 (С<sup>2</sup>) м.д. соответствуют атомам ароматического кольца (рис.9).

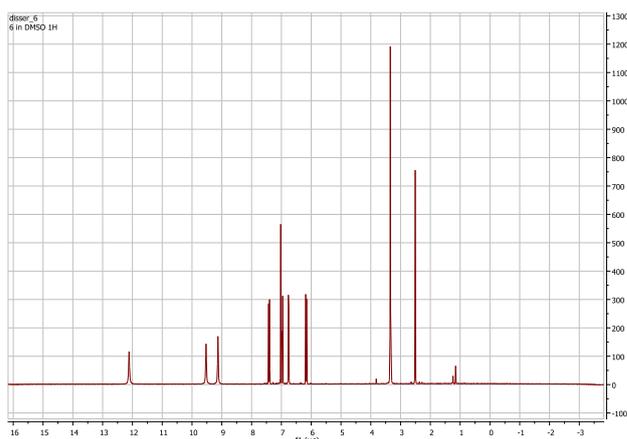


Рисунок 8. ЯМР-<sup>1</sup>H-спектр выделенной кофейной кислоты

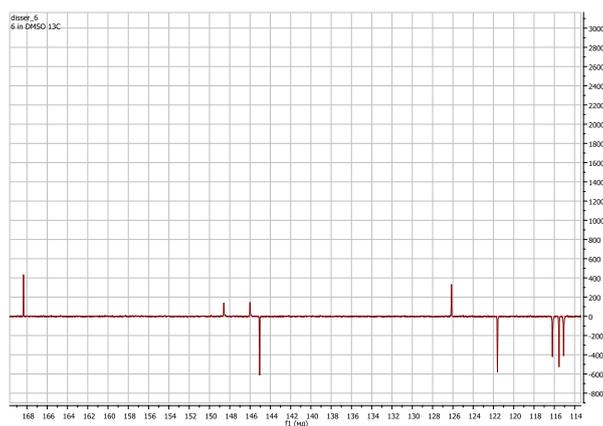


Рисунок 9. ЯМР-<sup>13</sup>C-спектр выделенной кофейной кислоты

При исследовании полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного были получены фракции водорастворимых полисахаридов (ВРПС) и пектиновых веществ (ПВ). Моносахаридный состав фракций устанавливали после предварительного гидролиза 4 М трифторуксусной кислотой и идентифицировали методом ГХ/МС в виде соответствующих триметилсилильных производных моносахаридов. По совпадениям с библиотечными масс-спектрами идентифицировано шесть моносахаридов во фракции ВРПС и четыре моносахарида во фракции ПВ (рис. 10-11).

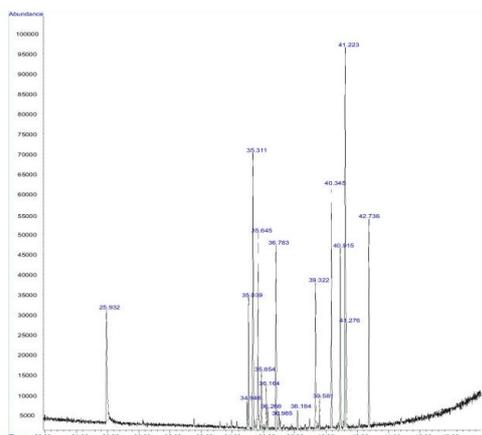


Рисунок 10. Хроматограмма моносахаридов ВРПС листьев боярышника кроваво-красного

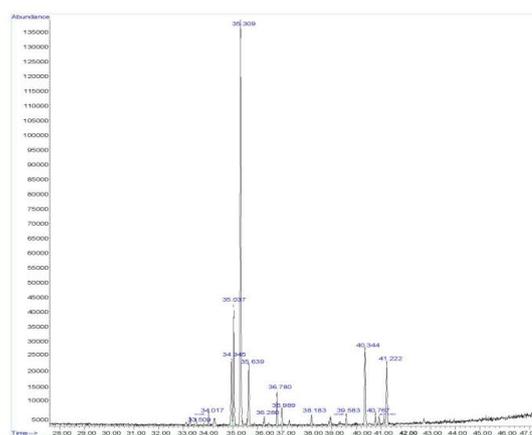


Рисунок 11. Хроматограмма моносахаридов ПВ листьев боярышника кроваво-красного

Согласно полученным данным, ВРПС в качестве макрокомпонентов содержат галактозу, глюкозу, арабинозу, маннозу и галактуроновую кислоту, а ПВ - арабинозу, галактозу и галактуроновую кислоту.

Анализ молекулярно-массового распределения полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного проводили методом ВЭЖХ. При исследовании ВЭЖХ-граммы ВРПС листьев боярышника кроваво-красного было установлено, что фракция ВРПС состоит из 3 полисахаридов, фракция ПВ - из одного полисахарида (рис.12-13).

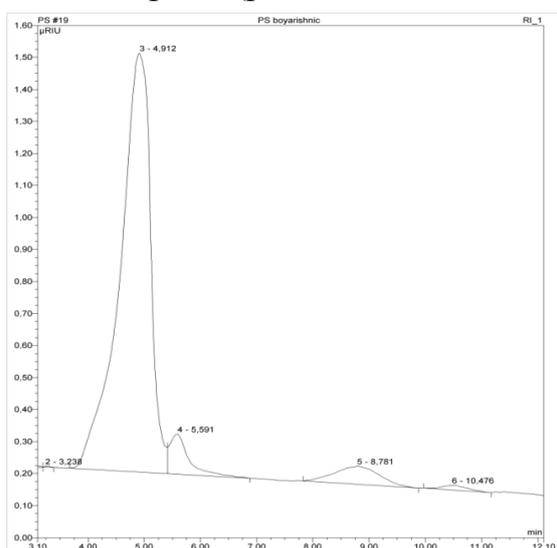


Рисунок 12. ВЭЖХ-грамма ВРПС листьев боярышника кроваво-красного

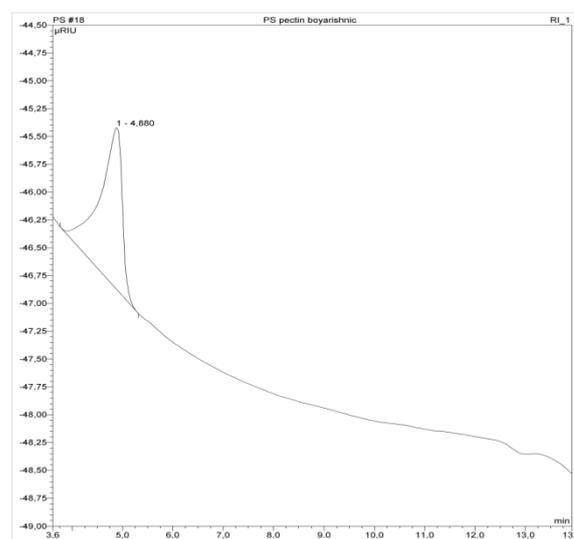


Рисунок 13. ВЭЖХ-грамма ВРПС листьев боярышника кроваво-красного

При хромато-масс-спектрометрическом исследовании образцов эфирного масла листьев боярышника кроваво-красного, полученного методом гидродис-

тилляции (метод 1) по ГФ XI издания, выявлено 44 соединения, из них идентифицировано 18.

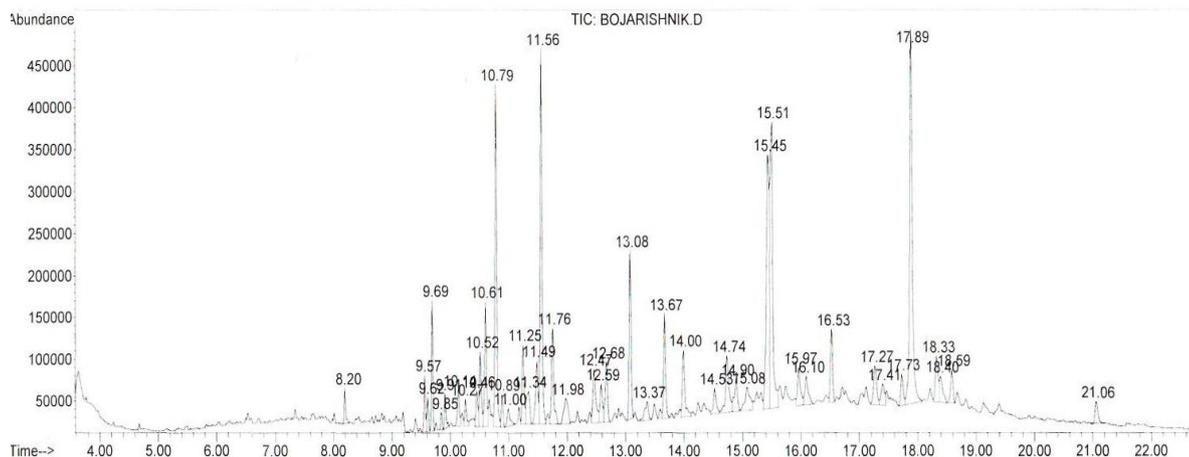


Рисунок 14 . Хроматограмма эфирного масла боярышника кроваво-красного

Основные компоненты эфирного масла представлены соединениями сесквитерпеновой природы: 1-этилиденоктагидро-7а-метил-1Н-инден (8.34%), ледол (7.17%),  $\alpha$ -фарнезен (2,01%),  $\alpha$ -кадинол (1,87%). Суммарная доля базовых компонентов в масле составила 37.5% (рис.14).

Методом ГХ/МС исследована липофильная фракция листьев боярышника кроваво-красного (рис. 15). Установлено наличие моно- и сесквитерпеновых углеводов, производных бензофурана, 9 высших жирных кислот, из которых доминирующими являются лигноцериновая (29,12%), арахидоновая (13,37%) и линолевая (7,61%).

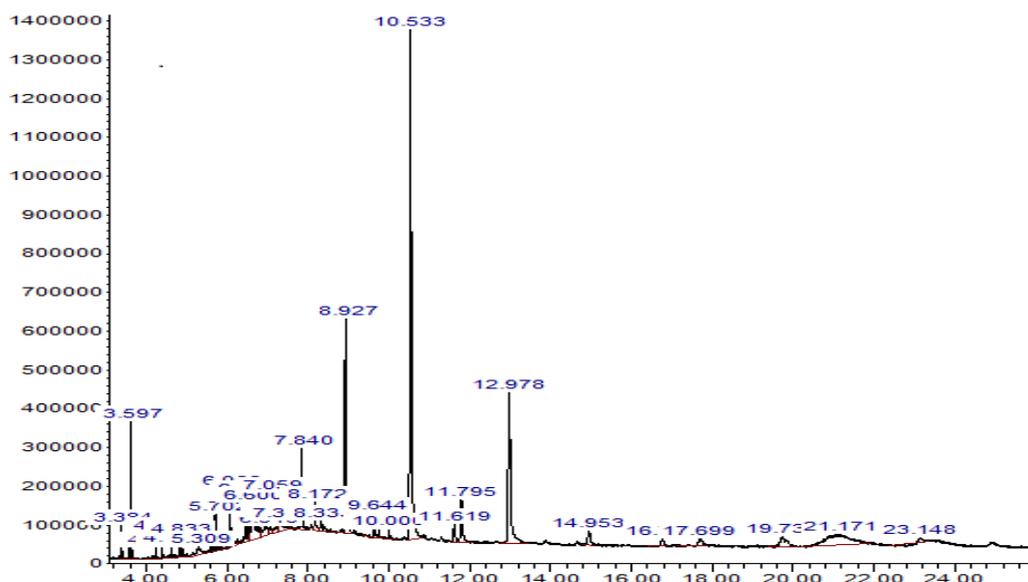


Рисунок 15. Хроматограмма липофильной фракции листьев боярышника кроваво-красного

## 6. Фармакогностическое исследование сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»

Проведено комплексное морфолого-анатомическое исследование разработанных сборов. При макро- и микроскопическом анализе обнаружены растительные элементы, отвечающие по своим диагностическим признакам видам сырья, описанным в НД. Выявлены ДЗП, критерий которых использован для стандартизации разработанных сборов. Определены индексы участия компонентов в сборах.

В сборах установлено наличие полифенольных соединений, полисахаридов, тритерпеновых сапонинов, флавоноидов, кумаринов, органических и аминокислот, ряда макро-и микроэлементов, липофильных веществ (терпеноидов, насыщенных и ненасыщенных углеводов, стероидов, высших жирных кислот, растительных пигментов). При исследовании спиртового извлечения сбора «Кардиофит-ИБС» методом ГХ/МС обнаружено 80 соединений (рис.16), из которых идентифицированы 13 веществ, относящихся к монотерпеновым и сесквитерпеновым углеводородам, кумаринам и ненасыщенным высшим жирным кислотам.

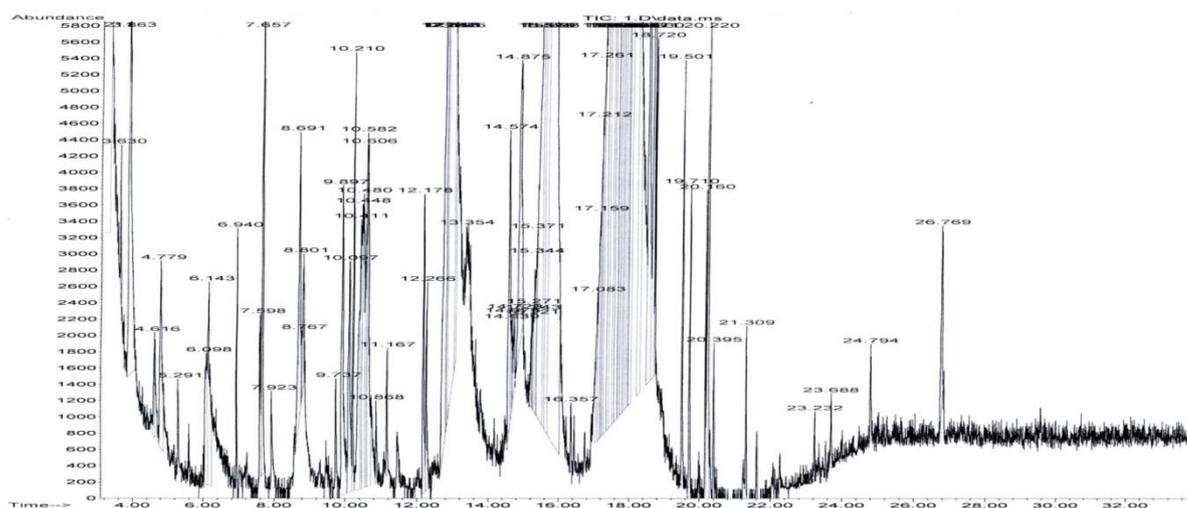


Рисунок 16. ГХ/МС-хроматограмма спиртового извлечения из сбора «Кардиофит-ИБС»

При исследовании спиртового извлечения сбора «Ангиофит-НМК» методом ГХ/МС обнаружено 33 соединения, из которых идентифицированы 10 веществ, относящихся к моносахарам, дитерпеновым углеводородам, кумаринам, фитостеринам и полиненасыщенным высшим жирным кислотам.

Для исследования химического состава сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» использован метод ВЭТСХ. С использованием ВЭТСХ была проведена качественная и количественная оценка обнаруженных в исследуемых объектах флавоноидов: рутина, гиперозида, кверцетина; и оксикоричных кислот: хлорогеновой и кофейной кислоты (рис.17-18).

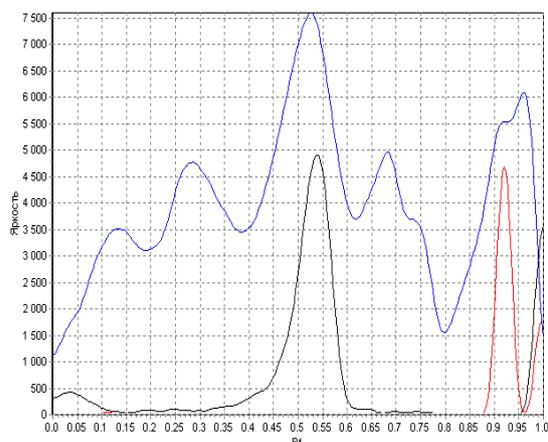


Рисунок 17. Денситограмма сбора «Ангиофит-НМК» при 365 нм в системе этилацетат-муравьиная кислота-уксусная кислота - вода (100:11:11:13) (синяя линия – сбор «Ангиофит-НМК», черная линия – хлорогеновая кислота, красная линия - кофейная кислота)

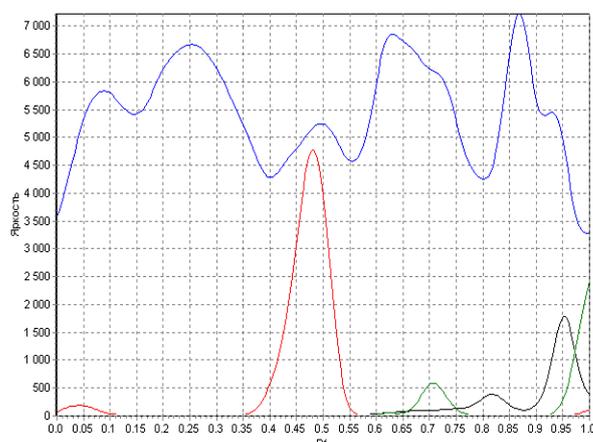


Рисунок 18. Денситограмма сбора «Кардиофит-ИБС» и свидетелей при 365 нм в системе этилацетат-муравьиная кислота-вода (8:1:1) (синяя линия – сбор «Кардиофит-ИБС», красная линия – рутин, зеленая линия – гиперозид, черная линия - кверцетин).

## **7. Стандартизация и разработка нормативной документации на сборы «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листья боярышника кроваво-красного**

Для сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного разработаны методики качественного анализа в виде хроматографических проб методом ТСХ. Экспериментально определены оптимальные системы растворителей: для сбора «Кардиофит-ИБС» - этилацетат-муравьиная кислота-вода (8:1:1), для сбора «Ангиофит-НМК» - этилацетат-муравьиная кислота-уксусная кислота - вода (100:11:11:13), для листьев боярышника кроваво-красного - системе этилацетат - муравьиная кислота - вода (14:3:3) с последующим детектированием в УФ-свете при длине волны 365 нм. В качестве стандартов в сборе «Кардиофит-ИБС» использованы стандартные образцы (СО) рутина, гиперозида и кверцетина, в сборе «Ангиофит-НМК» - СО рутина, кофейной и хлорогеновой кислот, в листьях боярышника кроваво-красного – СО рутина, гиперозида и хлорогеновой кислоты. На хроматограмме сбора «Кардиофит-ИБС» должны обнаруживаться не менее 3 основных зон ад-

сорбции на уровне СО рутина, гиперозида и кверцетина; допускается обнаружение дополнительных зон. На хроматограмме сбора «Ангиофит-НМК» - не менее 3 основных зон адсорбции на уровне СО рутина, кофейной и хлорогеновой кислот; допускается обнаружение дополнительных зон. На хроматограмме листьев боярышника кроваво-красного - не менее 3 основных зон адсорбции на уровне СО рутина, гиперозида и хлорогеновой кислоты; допускается наличие других зон.

При разработке методики количественного определения флавоноидов в сборах «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьях боярышника кроваво-красного измеряли УФ-спектры спиртовых извлечений. При исследовании УФ-спектра спиртового извлечения листьев боярышника кроваво-красного наблюдали две основные полосы поглощения (максимумы поглощения при длинах волн 332 и 272 нм, минимумы при 300 и 257 нм, и плечо в области 278-284 нм). В УФ-спектре сбора «Кардиофит-ИБС» наблюдали максимумы поглощения при 271-272 нм и 320-321 нм и минимумы поглощения при 264-265 нм и 313-314 нм, в УФ-спектре сбора «Ангиофит-НМК» - максимумы поглощения при 321-322 нм и 269-270 нм, минимумы – при 261-262 нм и 311-312 нм, а также площадка при 277-281 нм (рис.19). При взаимодействии со спиртовым раствором хлорида алюминия наблюдали батохромное смещение полос поглощения. Максимум поглощения комплекса сбора «Кардиофит-ИБС» с хлоридом алюминия оказался при длине волны 402 нм, сбора «Ангиофит-НМК» 410 нм, листьев боярышника кроваво-красного – 409 нм. При сравнении УФ-спектров поглощения спиртовых растворов рутина, кверцетина, гиперозида (флавоноидов, обнаруженных методом ТСХ в исследуемых объектах) и спиртовых извлечений исследуемых объектов с добавлением раствора алюминия хлорида оказалось, что максимум поглощения комплекса рутина - стандарта с раствором хлорида алюминия совпал с максимумом поглощения продуктов взаимодействия флавоноидов сбора «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного с алюминия хлоридом или был наиболее близок к максимуму сбора «Кардиофит-ИБС» (рис.20).

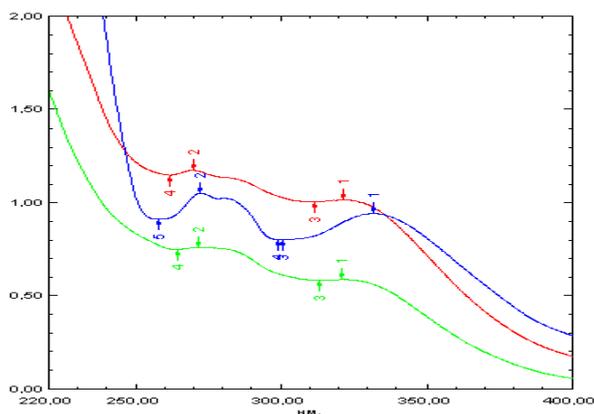


Рис.19. Зеленая линия – УФ-спектр спиртового извлечения сбора «Кардиофит-ИБС», красная линия - УФ-спектр спиртового извлечения сбора «Ангиофит-НМК», синяя линия - УФ-спектр спиртового извлечения листьев боярышника кроваво-красного

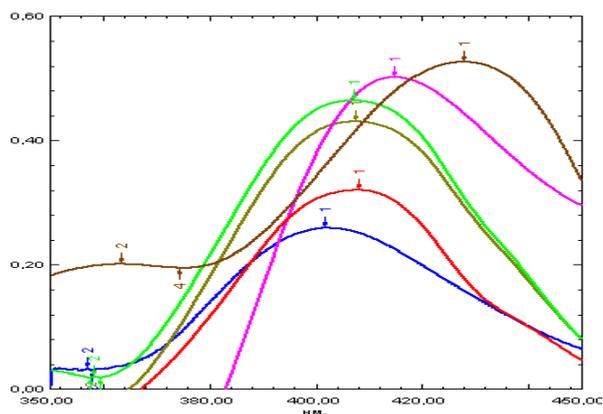


Рис. 20. Зеленая линия – УФ-спектр сбора «Кардиофит-ИБС» с  $AlCl_3$ , красная л. - УФ-спектр сбора «Ангиофит-НМК» с  $AlCl_3$ , синяя л. - УФ-спектр листьев боярышника кроваво-красного с  $AlCl_3$ , т.-зеленая л. – УФ-спектр рутина с  $AlCl_3$ , сиреневая л. – УФ-спектр гиперозида с  $AlCl_3$ , коричневая л. – УФ-спектр кверцетина с  $AlCl_3$

В ходе разработки методик экспериментально изучено влияние различных условий экстрагирования сырья на выход флавоноидов: концентрация экстрагента, соотношение сырья и экстрагента, время экстракции, кратность экстракции, концентрация и количество комплексообразователя. Проведена валидация методик по показателям: линейность, правильность, воспроизводимость и повторяемость. Содержание флавоноидов в сборе «Кардиофит-ИБС» находилось в пределах 1,37-1,73%, в сборе «Ангиофит-НМК» - 1,41-1,47%, в листьях боярышника кроваво-красного – 2,26-2,41%. Установлена норма содержания флавоноидов в сборе «Кардиофит-ИБС» - не менее 1,2%, в сборе «Ангиофит-НМК» - не менее 1,3%, в листьях боярышника кроваво-красного – не менее 1,5%.

Для определения качества сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного установлены числовые показатели и предложены нормы качества. С целью стандартизации определены микробиологическая чистота и содержание радионуклидов.

Определены сроки годности сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК», листьев боярышника кроваво-красного. Числовые показатели остаются в пределах разработанных норм качества в течение 3 лет.

С целью оптимизации заготовки и переработки листьев боярышника кроваво-красного была изучена динамика накопления основных групп БАВ и определены оптимальные сроки заготовки сырья. Установлено, что максимальное содержание БАВ в листьях боярышника кроваво-красного отмечено от периода начала бутонизации до окончания цветения растения.

На основании проведенных исследований разработаны проекты ФСП на сборы «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК», ФС на листья боярышника кроваво-красного.

## **8. Исследование фармакологических свойств**

Фармакологические исследования проводились совместно с кафедрами фармакологии № 2, микробиологии, ЦНИЛ БГМУ и лабораторией новых лекарственных средств института органической химии УНЦ РАН.

Определена острая токсичность сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного. Доказано, что исследуемые сборы и листья боярышника кроваво-красного при однократном введении *per os* нетоксичны и в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 относятся к 4 классу «Вещества малотоксичные».

С использованием трех методик исследованы антиоксидантные свойства сборов и листьев боярышника кроваво-красного. Согласно спектрофотометрической методике наибольшей антиоксидантной активностью обладает сбор «Ангиофит-НМК» ( $77 \pm 3,7\%$ ), что сопоставимо с препаратом сравнения - аскорбиновой кислотой ( $79 \pm 3,9\%$ ). Антиоксидантная активность сбора «Кардиофит-ИБС» составила  $67 \pm 3,2\%$ , листьев боярышника кроваво-красного -  $57 \pm 3,1\%$ .

При исследовании антиоксидантной активности хемилюминесцентным методом оказалось, сбор «Кардиофит-ИБС» снижал образование активных форм кислорода в дозах от 0,001 до 0,05 г/мл от 31% до 95%, сбор «Ангиофит-НМК» от - 12% до 92%, листья боярышника кроваво-красного - от 40% до 99%, препарат сравнения (аскорбиновая кислота) в тех же дозах от 16% до 90%. Исследуемые объекты влияли и на скорость ПОЛ, снижая ее в среднем: сбор «Кардиофит-ИБС» - от 38% до 93%, сбор «Ангиофит-НМК» - от 24% до 96%, листья боярышника кроваво-красного – от 83% до 99 %, препарат сравнения от 6% до 92% в зависимости от дозы.

При исследовании антиоксидантной активности по влиянию на простейших, все объекты были отнесены по шкале антиоксидантной активности к уме-

ренно-активным веществам с преобладанием активности у листьев боярышника кроваво-красного.

На различных моделях *in vitro* и *in vivo* изучены фармакологические свойства сборов и листьев боярышника кроваво-красного. Установлено, что листья боярышника кроваво-красного обладают антиаритмическим, кардиопротективным, мембраностабилизирующим действием; сбор «Кардиофит-ИБС» - кардиопротективным, антиагрегантным, антикоагулянтным, мембраностабилизирующим, антигипоксическим действием; сбор «Ангиофит-НМК» - антиагрегантным, антикоагулянтным, антигипоксическим, мембраностабилизирующим действием.

### **9. Экспериментальное обоснование рационального использования сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного**

Проведенные исследования показали, что сборы «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листья боярышника кроваво-красного могут служить источниками получения гидрофильных и липофильных веществ. Исследованы различные водные извлечения из сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК», полученные из измельченного сырья и фильтр-пакетов. Установлено, настои из сборов из фильтр-пакета имели хорошие органолептические характеристики, а при сравнении с водными извлечениями из измельченных сборов, практически не уступали им в содержании основных групп БАВ.

Из сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» разработаны технологические схемы получения жидких экстрактов 1:1 методом перколяции. Из листьев боярышника кроваво-красного разработана технологическая схема получения густого полиэкстракта. Определены органолептические, физико-химические и технологические свойства полученных экстрактов.

Стандартизацию экстрактов из сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного проводили соответственно принципу «сырье-лекарственное средство» (Самылина И.А., 1994) по методикам, разработанным для стандартизации соответствующего сбора или сырья.

Содержание флавоноидов в пересчете на рутин в жидком экстракте сбора «Кардиофит-ИБС» составило в среднем  $0,32 \pm 0,01\%$ , в жидком экстракте сбора «Ангиофит-НМК» -  $0,65 \pm 0,02\%$ , в густом экстракте листьев боярышника кроваво-красного -  $6,25 \pm 0,28\%$ .

Сроки годности жидких экстрактов из сборов составили 4 года, густого экстракта из листьев боярышника кроваво-красного – 3 года.

На основании проведенных исследований разработаны проекты ФСП «Густой экстракт из листьев боярышника кроваво-красного», «Жидкий экстракт из сбора «Кардиофит-ИБС» и «Жидкий экстракт из сбора «Ангиофит-НМК».

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Современные экспериментальные исследования свидетельствуют о ключевой роли оксидантного стресса в формировании и прогрессировании различных заболеваний и необходимости ранней, планомерной и комплексной антиоксидантной коррекции.

В диссертационной работе выполнен системный анализ отечественной и зарубежной научной литературы в области использования антиоксидантов синтетического и природного происхождения для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии. На основании данного анализа выявлено, что наиболее изученные заболевания, в развитии которых большое значение приобретает оксидантный стресс, являются сердечно-сосудистые заболевания.

При создании лекарственных растительных средств актуальной проблемой является разработка методологических подходов к их созданию. На основании проведенных исследований разработан методологический подход по созданию лекарственных растительных средств на основе природных антиоксидантов, включающий в себя нескольких направлений исследований: маркетинговых, фармакологических, фармакогностических, технологических и разработки НД. Разработка теоретических положений и создание на их основе лекарственных растительных средств стали возможным благодаря комплексному использованию теоретических и экспериментальных методов исследования.

Впервые установлено в листьях боярышника кроваво-красного присутствие ряда флавоноидов, кумаринов, простых фенолов, оксикоричных кислот, терпеноидов, высших жирных кислот. Показано, что присутствующие фенольные соединения вносят вклад в антиоксидантные свойства листьев боярышника кроваво-красного и разработанный препарат на их основе – густой экстракт. На основании проведенных исследований доказано, что разработанные сборы могут служить источниками получения гидрофильных и липофильных веществ, обладающих антиоксидантной активностью, что позволило обосновать и пред-

ложить препараты на их основе – жидкие экстракты. Научная новизна исследований подтверждена тремя патентами на изобретение. Разработаны проекты нормативной документации – фармакопейные статьи и фармакопейные статьи предприятия.

Результаты диссертационной работы внедрены в работу различных фармацевтических предприятий и учебный процесс кафедр фармацевтического профиля. Полнота публикаций диссертационной работы отражена в 59 научных статьях, в том числе – 21 статье в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России. Результаты исследований многократно апробированы на международных и российских конференциях.

Фармакологические испытания подтвердили целесообразность разработанных методологических подходов к созданию новых растительных лекарственных средств для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

В результате проведенных исследований согласно разработанной методологической схеме по созданию лекарственных средств, обладающих антиоксидантной активностью, решена проблема по созданию новых эффективных лекарственных препаратов и предложены научно-методические предпосылки для последующего изучения новых видов лекарственного растительного сырья или сборов для целенаправленного поиска новых сырьевых источников получения эффективных отечественных антиоксидантных препаратов.

## **ВЫВОДЫ**

1. На основании обобщенных современных данных установлено, что недостаточно исследованы вопросы возможности использования растительных антиоксидантов в комплексном лечении заболеваний, связанных со свободнорадикальной патологией. Установлена необходимость расширения ассортимента лекарственного растительного сырья, обладающего антиоксидантной активностью, в том числе, за счет введения нового источника сырья - листьев боярышника кроваво-красного.
2. Экспериментально-теоретически обоснованы и разработаны методологические подходы к созданию новых растительных средств на основе лекарственных растений и многокомпонентных сборов, обладающих антиоксидантным действием.

3. Выявлены антиоксидантные свойства лекарственного растительного сырья и различных их сочетаний, которые легли в основу экспериментального обоснования составов двух новых сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.
4. Выявлены в ходе морфолого-анатомического исследования листьев боярышника кроваво-красного новые диагностические признаки, позволяющие объективно осуществлять идентификацию сырья. Впервые определены анатомические признаки черешка листа и прилистников боярышника кроваво-красного.
5. С использованием ВЭТСХ, ГХ/МС, ВЭЖХ, ЯМР-, УФ- и ИК-спектроскопии изучен компонентный состав биологически активных веществ листьев боярышника кроваво-красного, в результате чего идентифицировано 70 соединений различной природы. Установлена структура 17 выделенных веществ фенольной природы, из которых впервые в листьях боярышника кроваво-красного идентифицированы: изовитексин, физетин, дигидрокверцетин, нарингин, гесперидин, кофейная и хлорогеновая кислоты. Методом ВЭЖХ впервые в листьях боярышника кроваво-красного идентифицирован байкалеин. Методом ГХ/МС впервые установлено присутствие кумарана,  $\alpha$ -гидрохинона, пирокатехина и хинной кислоты. В эфирном масле листьев боярышника кроваво-красного впервые идентифицировано 18 веществ, из которых преобладают соединения сесквитерпеновой природы: 1-этилиденоктагидро-7 $\alpha$ -метил-1H-инден, ледол,  $\alpha$ -фарнезен,  $\alpha$ -кадиол. В липофильной фракции выявлены 19 веществ с преобладанием предельных и непредельных жирных кислот. Впервые методами ВЭЖХ и ГЖХ установлен состав полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного.
6. На основании морфолого-анатомических исследований сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» выявлены диагностически значимые признаки для стандартизации, позволяющие объективно оценивать качество сырья. С использованием хроматографических методов (ТСХ, ВЭТСХ, ВЭЖХ, ГХ/МС) изучен химический состав сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» и установлено содержание флавоноидов, органических кислот, кумаринов, суммы дубильных соединений, сапонинов, аскорбиновой кислоты, полисахаридов, эфирных масел, каротиноидов, аминокислот, макро- и микроэлементов.

7. Экспериментально обоснованы показатели подлинности и качества листьев боярышника кроваво-красного и сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК», необходимые при разработке проектов нормативной документации.
8. Разработаны фитопрепараты на основе сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» - жидкие экстракты, из листьев боярышника кроваво-красного – густой экстракт.
9. Изучены токсико-фармакологические свойства исследуемых сборов и листьев боярышника кроваво-красного. Установлены антиагрегантные, антикоагулянтные, антигипоксантные, антиоксидантные, мембраностабилизирующие свойства сбора «Ангиофит-НМК»; кардиопротективные, антиагрегантные, антикоагулянтные, антигипоксантные, антиоксидантные, мембраностабилизирующие свойства сбора «Кардиофит-ИБС»; антиаритмические, кардиопротективные, антиоксидантные, мембраностабилизирующие свойства листьев боярышника кроваво-красного.
10. Разработаны проект ФС «Боярышника кроваво-красного листа», проекты ФСП на сборы «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК», «Жидкий экстракт сбора «Ангиофит-НМК», «Жидкий экстракт сбора «Кардиофит-ИБС», «Густой экстракт боярышника кроваво-красного листьев», «Инструкция по сбору и сушке листьев боярышника кроваво-красного».
11. С учетом результатов фармакогностических, технологических и фармакологических исследований обоснована целесообразность создания антиоксидантных лекарственных средств для расширения рынка отечественных фармацевтических препаратов.

### **Рекомендации**

Проведенные исследования могут быть использованы для создания и стандартизации новых лекарственных растительных препаратов и для целенаправленного поиска новых сырьевых источников получения эффективных отечественных антиоксидантов.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы**

Перспективы дальнейшей разработки темы диссертационного исследования включают в себя такие направления, имеющие важное теоретическое и практическое значение: введение в отечественную номенклатуру растительного сырья листьев боярышника кроваво-красного, листьев боярышников других отечественных видов; листьев с цветками боярышника, сборов «Кардиофит-

ИБС» и «Ангиофит-НМК»); углубленное изучение их фармакологической активности и проведения доклинических и клинических испытаний.

#### Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Хасанова, С.Р. Компонентный состав полисахаридного комплекса листьев *Crataegus sanguinea* (Rosaceae) из флоры Республики Башкортостан / С.Р. Хасанова, Н.В.Кудашкина, М.В. Белоусов и [др.] // **Растительные ресурсы.** – 2015. – Т.51, № 3. – С.397-406.
2. Хасанова, С.Р. Изучение качественного состава липофильной фракции листьев боярышника кроваво-красного / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина // **Традиционная медицина.** – 2015. – Т.41, № 2. – С.53-55.
3. Хасанова, С.Р. Антиоксиданты и биологически активные вещества лекарственных растений / С.Р. Хасанова // **Фармация.** - 2003. - № 4. -С.32-33.
4. Хасанова, С.Р. Сравнительное изучение антиоксидантной активности растительных сборов / С.Р. Хасанова, Т.И. Плеханова, Э.Х. Галиахметова [и др.] // **Вестник Воронежского государственного университета. Секция «Химия. Биология. Фармация».** – 2007. – Выпуск 1. - С.163 - 166.
5. Хасанова, С.Р. Изучение антиагрегантных свойств растительного сбора «Кардиофит» / С.Р. Хасанова, А.П. Потанина, Н.В. Кудашкина [и др.] // **Кардиоваскулярная терапия и профилактика.** – 2009.- № 8 (6). – С. 377-378.
6. Галиахметова, Э.Х. Химическое изучение листьев лимонника китайского *Schizandra chinensis* Baill., интродуцированного в Республике Башкортостан / Э.Х.Галиахметова, Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова // **Традиционная медицина.** -2010. –№3 (22). - С. 112-114.
7. Трофимова, С.В. Изучение антиаритмической активности листьев *Crataegus sanguinea* (Rosaceae) / С.В. Трофимова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина [и др.] // **Медицинский вестник Башкортостана.** - 2011. – Т.6, № 2. - С. 299 – 302.
8. Хасанова, С.Р. Особенности приготовления водного извлечения из сбора «Кардиофит» / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, А.П. Потанина // **Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии.** - 2011. – № 5. - С. 6 – 8.
9. Хасанова, С.Р. Определение содержания йода в некоторых дикорастущих и культивируемых лекарственных растениях Республики Башкортостан и в сборах / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, С.В. Трофимова [и др.] // **Традиционная медицина.** - 2011. – №5. - С. 294 – 297.
10. Хасанова, С.Р. Разработка методов стандартизации жидкого экстракта на основе сбора для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообра-

- щения / С.Р. Хасанова, Э.Х. Галиахметова, Н.В. Кудашкина // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2012. – №3. – С. 35 - 37.
11. Хасанова, С.Р. Исследование антиоксидантной активности листьев боярышника кроваво-красного методом хемилюминесценции / Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова, С.В. Трофимова [и др.]// **Традиционная медицина.** - 2012. –№5. - С. 316 – 317.
  12. Хасанова, С.Р. Изучение кардиопротективных свойств листьев боярышника кроваво-красного и сбора «Кардиофит» / С.Р. Хасанова, С.В. Трофимова, А.П. Потанина [и др.]// **Медицинский вестник Башкортостана.** - 2012. – Т.7, № 5. - С. 112 – 114.
  13. Фархутдинов, Р.Г. Определение содержания йода в растениях Республики Башкортостан / Фархутдинов Р.Г., Кудашкина Н.В., Хасанова С.Р. [и др.]// **Растительные ресурсы.** - 2013. - Т.49, № . - С.139-146.
  14. Хасанова, С.Р. Исследование аминокислотного состава некоторых дикорастущих растений из флоры Республики Башкортостан / С.Р. Хасанова, С.В. Трофимова, Р.Р. Файзуллина [и др.]// **Башкирский химический журнал.** - 2013. - Т20, № 1. - С. 108-110
  15. Хасанова, С.Р. Исследование компонентного состава эфирных масел листьев боярышника кроваво-красного и травы болиголова пятнистого из флоры Башкортостана / С.Р. Хасанова, С.В. Трофимова, Н.В. Кудашкина [и др.] // **Башкирский химический журнал.** - 2013. - Т20, № 2. - С. 103-105.
  16. Хасанова, С.Р. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в растительном сборе «Кардиофит» / С.Р. Хасанова, А.П. Потанина, Н.В. Кудашкина // **Башкирский химический журнал.** - 2013. - Т20, № 3. - С. 60-62.
  17. Потанина, А.П. Исследование антиоксидантной активности сбора «Кардиофит» хемилюминесцентным методом / А.П. Потанина, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина [и др.] // **Медицинский вестник Башкортостана.** – 2013. - Т.8, № 5. - С. 75 – 77.
  18. Хасанова, С.Р. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в растительном сборе «Кардиофит» / С.Р. Хасанова, А.П. Потанина, Н.В. Кудашкина // **Башкирский химический журнал.** - 2013. - Т20, № 3. - С. 84-86.
  19. Хасанова, С.Р. Определение флавоноидного состава листьев боярышника кроваво-красного из флоры РБ методом ВЭЖХ / С.Р. Хасанова, С.В. Трофимова, Н.В. Кудашкина [и др.]// **Современная медицина и фармацевтика: анализ и перспективы развития: материалы 8 Международной научно-практической конференции.** – М., Изд-во «Спутник+», 2013. – С.36.

20. Кильдибекова, Р.Н. Роль кинези- и фитотерапии в реабилитации пациентов с функциональным расстройством желчного пузыря / Р.Н. Кильдебекова, Э.А. Исангулова, С.Р. Хасанова [и др.] // **Фундаментальные исследования.** – 2014. - №10. – С. 897 – 900.
21. Хасанова, С.Р. Изучение фармакологических свойств растительного сбора «Кардиофит» / С.Р. Хасанова, А.П. Потанина, Н.В. Кудашкина [и др.] // **Медицинский вестник Башкортостана.** - 2014. – Т.9, № 6. – С. 73 – 76.
22. Хасанова, С.Р. Новые подходы к качественной характеристике многокомпонентного сбора / С.Р. Хасанова, Т.И. Плеханова // **Здравоохранение Башкортостана.** – 2002.- № 2.- С.101-103
23. Глебова, Н.Н. Терапия психосоматических расстройств у женщин после пангистерэтомии по поводу миомы матки / Н.Н. Глебова, Н.З. Валиуллина, С.Р. Хасанова [и др.] // **Перинатальная психология и медицина. Психосоматические расстройства в акушерстве, педиатрии и терапии: сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием.** – Иваново, 2001.- часть II.- С.141-144.
24. Валиуллина, Н.З. Психосоматические особенности при альгодисменорее женщин и их лечение / Н.Н. Глебова, Н.З. Валиуллина, С.Р. Хасанова [и др.] // **Перинатальная психология и медицина. Психосоматические расстройства в акушерстве, педиатрии и терапии: сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием.** – Иваново, 2001.- часть II.- С.101-104.
25. Никитина, Т.И. Новые подходы к качественной характеристике многокомпонентного сбора / Т.И. Никитина, С.Р. Хасанова // **Актуальные проблемы теории и прак.фармации: сборник научн.статей Алтайского госмедуниверситета.** - Барнаул, 2000.- С. 167-171.
26. Плеханова, Т.И. Новые сборы из лекарственного растительного сырья / Т.И. Плеханова, Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова [и др.] // **Новая аптека.** – 2003. - № 11. – С.75-76.
27. Плеханова, Т.И. Антиоксидантная активность растительного сбора / Т.И. Плеханова, С.Р. Хасанова, А.Я. Герчиков [и др.] // **Сборник материалов Научной юбилейной конференции, посвященной 25-летию со дня открытия в Москве Центрального научно-исследовательского института рефлексотерапии.** - Москва, 2002.- С.167-168.
28. Пчелякова, Т.Ф. Применение фитотерапии в комплексном лечении больных инфарктом миокарда в условиях отделения кардиореабилитации санатория «Зеленая Роща» / Т.Ф. Пчелякова, Н.Т. Габдуллин, С.Р. Хасанова [и др.] // **Актуальные вопросы восстановительной медицины и курортологии: мате-**

- риалы научно-практической конференции, посвященной году здоровья, 65-летия санатория «Янган-Тау». – Уфа, 2003. – С.34-35.
29. Хасанова, С.Р. Поиск рациональных лекарственных форм на основе растительного сырья / С.Р. Хасанова, Т.И. Плеханова, Э.Х. Галиахметова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. - Пятигорск, 2004.- С.110-111.
30. Хасанова, С.Р. Разработка сборов из лекарственного растительного сырья флоры Республики Башкортостан // С.Р. Хасанова, Т.И. Плеханова, Н.В. Кудашкина [и др.] // Роль природных факторов и туризма в формировании здоровья населения: материалы III Российской научной конференции. - Уфа, 2005. - С.115-117.
31. Хасанова, С.Р. Разработка методов фитохимического контроля при изготовлении лекарственных форм на основе лекарственного растительного сырья / С.Р. Хасанова // Новые достижения в создании лекарственных средств растительного происхождения: материалы всероссийской научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Л.Н. Берзнеговской. – Томск, 2006. – С. 67-71.
32. Галиахметова, Э.Х. Разработка метода стандартизации растительного сбора / Э.Х. Галиахметова, С.Р. Хасанова // Медицинский вестник Башкортостана. - 2006. – № 1. - С. 177-180.
33. Галиахметова, Э.Х. Экспериментальное обоснование состава растительного сбора при нарушении мозгового кровообращения / Э.Х. Галиахметова, С.Р. Хасанова // Роль природных факторов и туризма в формировании здоровья населения: материалы IV Российской научной конференции. – Уфа, 2006. – С. 54-55.
34. Хасанова, С.Р. Обоснование состава растительного сбора / С.Р. Хасанова, Э.Х. Галиахметова // Russia – China. International scientific conference on pharmacology «Fundamental pharmacology and pharmacy – clinical practice». - Perm, 2006. – С. 167-168.
35. Хасанова, С.Р. Пути решения рационального использования лекарственного растительного сырья / С.Р. Хасанова, Э.Х. Галиахметова // VII Международный симпозиум «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». – Москва, 2007. – Т.3. - С. 430-433.
36. Галиахметова, Э.Х. Использование микроскопического анализа для определения качества растительного сбора / Э.Х. Галиахметова, С.Р. Хасанова // Вестник Пермской государственной академии. – Пермь, 2007. – № 4.- С. 259-262.
37. Хасанова, С.Р. Перспективы использования лекарственных растений в комплексной терапии нарушений мозгового кровообращения / С.Р. Хасанова,

- Э.Х. Галиахметова, Н.В. Кудашкина // Вестник Пермской государственной академии. – Пермь, 2007. – № 4. - С. 271-273.
38. Галиахметова, Э.Х. О возможности решения вторичной профилактики инсульта у детей / Э.Х. Галиахметова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина // Актуальные проблемы педиатрии: сборник научных трудов. – Уфа, 2008. - С. – 41-43.
39. Курбангалиева, Г.Р. Определение числовых показателей растительного сбора «Кардиофит» / Г.Р. Курбангалиева, С.Р. Хасанова // Вопросы теоретической и практической медицины: материалы 73-й итоговой Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых. - Уфа, 2008. – Т.1.- С. 196-197.
40. Галиахметова, Э.Х. Разработка лекарственного препарата на основе сбора для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообращения / Э.Х. Галиахметова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. - Пятигорск, 2008. – Вып.63.- С. 136-138.
41. Иванова, Е.И. Изучение химического состава листьев боярышника кроваво-красного / Е.В. Иванова, С.В. Трофимова, С.Р. Хасанова [и др.] // Вопросы теоретической и практической медицины: материалы 74-й Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной Году молодежи в России и Году поддержки и развития молодежных инициатив в РБ. - Уфа, 2009. – С. 208-210.
42. Галиахметова, Э.Х. Получение и исследование лекарственных форм на основе растительного сбора / Э.Х. Галиахметова, С.Р. Хасанова // Научный Прорыв – 2009: сборник научных трудов конференции ученых Республики Башкортостан с международным участием, посвященной Году Поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Республики. - Уфа, 2009. – С. 6-7.
43. Потанина, А.П. Использование микроскопии для стандартизации растительного сбора «Кардиофит» / А.П. Потанина, С.Р. Хасанова // Вопросы теоретической и практической медицины: материалы 74-й Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной Году молодежи в России и Году поддержки и развития молодежных инициатив в РБ. - Уфа, 2009. – С. 77-79.
44. Трофимова, С.В. Поиск новых источников антиоксидантов / С.В. Трофимова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина // Медицинская наука – 2009: материалы Республиканской конференции молодых ученых Республики Башкортостан с международным участием, посвященной Году Поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Медицинского работника. - Уфа, 2009. – С. 261-263.

45. Хасанова, С.Р. Исследования по разработке метода стандартизации растительного сбора / С.Р. Хасанова, А.П. Потанина, Н.В. Кудашкина // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. - Пенза, 2010. – Вып.65. - С. 418-419.
46. Пушкарев, В.А. О возможности использования лекарственных растений в комплексной терапии и профилактики онкологических заболеваний / В.А. Пушкарев, Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова [и др.] // Современные проблемы фитотерапии и этнической медицины: материалы 2-го международного съезда фитотерапевтов и травников. - Москва, 2010. – С. 264-268.
47. Трофимова, С.В. Исследование листьев боярышника кроваво-красного из флоры Республики Башкортостан / С.В. Трофимова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии: материалы Российской научно-практической конференции «Создание лекарственных средств на основе продуктов природного происхождения», Пермь, 2010. – Вып.7. - С. 198-200.
48. Чуйкин, С.В. Обоснование применения полиэкстракта боярышника кроваво-красного в комплексном лечении ксеростомии у лиц пожилого возраста / Чуйкин С.В., Кудашкина Н.В., Хасанова С.Р. [и др.] // Актуальные вопросы современной стоматологии: материалы Республиканской конференции стоматологов. - Уфа, 2012. - С.47-49.
49. Федорина, Т.А. Исследования растворимости пастилок из растительного сбора «Кардиофит» / Т.А. Федорина, А.П. Потанина, С.Р. Хасанова // Вестник Башкирского государственного медицинского университета: материалы 79-й Всероссийской научной конф. студентов и молодых ученых с международным участием. – Уфа, 2014. – Сер. изд. №3 (прилож.). - С.1746-1749.
50. Хасанова, С.Р. Поиск новых растительных средств для первичной и вторичной профилактики ИБС / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, А.П. Потанина [и др.] // Гаммермановские чтения – 2011: сборник научных трудов научно-методической конференции. - Санкт-Петербург, 2011. – С. 84-87.
51. Хасанова, С.Р. Возможности использования денситометрии в стандартизации лекарственного растительного сырья / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, Р.Р. Файзуллина // Человек и лекарство: сборник матер. XXI Российского национального конгресса. – Москва, 2014. – С.347 – 348.
52. Хасанова, С.Р. Выделение комплекса полисахаридов из листьев боярышника кроваво-красного *Crataegus sanguinea* Pall. и исследование его моносахаридного состава / С.Р. Хасанова, С.В. Трофимова, Н.В. Кудашкина // Гаммермановские чтения – 2014: сборник научных трудов научно-метод. конференции. - Санкт-Петербург, 2014. – С. 126 – 127.

53. Хасанова, С.Р. Подходы к стандартизации лекарственных форм на основе растительных сборов / С.Р. Хасанова, Э.Х. Галияхметова, Т.И. Плеханова // Медицинская наука-2003: материалы Республиканской конференции молодых ученых Республики Башкортостан, посвященной Году спорта и здорового образа жизни, Дню медицинского работника. – Уфа, 2000. – С.71.
54. Хасанова, С.Р. Использование постинфарктного сбора в реабилитации больных, перенесших инфаркт миокарда / С.Р. Хасанова, Т.И. Плеханова, Е.А. Магер // Лекарственные растения в фармакологии и фармации: тезисы докл. научн. конф., посвященной 50-летию Алт. госмедуниверситета. – Барнаул, АГМУ, 2004. – С.294-296.
55. Кудашкина, Н.В. Исследования по разработке сборов из лекарственного растительного сбора / Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова, Э.Х. Галияхметова [и др.] // Человек и лекарство: сборник материалов XIV Российского национального конгресса. – Москва, 2007. – С. 393.
56. Хасанова, С.Р. Сравнительная характеристика противогипоксических свойств профилактического введения растительного сбора и жидкого экстракта на его основе / С.Р. Хасанова, Э.Х. Галияхметова, Р.Ю. Хисамутдинова // Химия растительных веществ и органический синтез: сборник материалов научно-практической конференции. - Сыктывкар, 2009. – С. 146.
57. Хасанова, С.Р. Изучение антиагрегантных и антикоагулянтных свойств растительных сборов / С.Р. Хасанова, А.П. Потанина, Н.Ж. Басченко [и др.] // Химия растительных веществ и органический синтез: сборник материалов научно-практической конференции. - Сыктывкар, 2009. – С. 145.
58. Трофимова, С.В. Изучение острой токсичности листьев боярышника кроваво-красного / С.В. Трофимова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина // Научный Прорыв – 2009: сборник научных трудов конференции ученых Республики Башкортостан с международным участием, посвященной Году Поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Республики, Уфа, 2009. – С. 22.
59. Трофимова, С.В. Изучение влияния листьев боярышника кроваво-красного *Crataegus sanguinea* Pall. на свободно-радикальное окисление / С.В. Трофимова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, Р.Р. Фархутдинов, М.И. Штанько // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2014. - № 5. – С.39-42.

#### Патенты

1. Хасанова, С.Р. Сбор лекарственных растений для профилактики и лечения ишемической болезни сердца / С.Р. Хасанова, А.П. Потанина, Н.В. Кудашкина, Н.Ж. Басченко, Н.С. Макара // Патент РФ № 2416424. – А61К 36/899,

- A61K36/534, A61K36/533, A61K36/734, A61K 36/28, A61K36/73, A61K36/23, A61K36/282, A61K36/51, A61K36/185. – Бюлл.изобр. № 11 от 20.04.2010 г.
2. Хасанова, С.Р. Сбор лекарственных растений для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообращения / С.Р. Хасанова, Э.Х. Галиахметова, Н.Ж. Басченко, Н.С. Макара // Патент РФ № 2338550. – А61К36/738, А61К36/28, А61К36/282, А61К36/48, А61К36/484, А61К36/534, А61К36/68, А61К36/73, А61К36/734, А61Р9/10. – Бюлл.изобр. № 32 от 20.11.2008 г.
  3. Штанько, М.И. Способ местного лечения и профилактики основных стоматологических заболеваний у лиц пожилого и старческого возраста с применением жевательного субстрата / М.И. Штанько, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, С.В. Чуйкин, Е.Г. Егорова // Патент РФ № 2521373. – А 61 К 9/68, А 61 К 36/734, А 61 Р 1/02. – Бюлл.изобр. № 18 от 27.06.2014 г.

### **Монографии**

1. Хасанова, С.Р. Фитотерапия артериальной гипертензии. Библиотека практикующего врача: монография / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, К.А. Пупыкина [и др.] . - Уфа, Изд. «Травы Башкирии», 2010.- 93с.
2. Фитотерапия в гинекологии. Библиотека практикующего врача: монография / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, В.А. Пушкарев, В.А. Газизова [и др.].- Уфа, Изд. «Травы Башкирии», 2009.- 120 с.
3. Хасанова, С.Р. Фитотерапия инфекционных заболеваний. Библиотека практикующего врача: монография / С.Р. Хасанова, Н.Д. Куватова, Н.Г.Аюпова [и др.]. - Уфа, Изд. «Травы Башкирии», 2010.- 80с.
4. Хасанова, С.Р. Фитотерапия в урологии. Библиотека практикующего врача: монография / С.Р. Хасанова, А.Г. Хасанов, К.А. Пупыкина [и др.]. - Уфа, Изд. «Травы Башкирии», 2011.- 88 с.