

На правах рукописи

МОРОЗОВА ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ
ВИДОВ РОДА БОЯРЫШНИК (*CRATAEGUS L.*)**

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Самара – 2019

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:

Зилфикаров Ифрат Назимович – доктор фармацевтических наук, профессор РАН, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», отдел фитохимии, главный научный сотрудник.

Шмыгарева Анна Анатольевна – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии, профессор кафедры.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск.

Защита состоится «__» _____ 2019 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.085.06 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/2019/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук

Жданова Алина Валитовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В соответствии со Стратегией развития фармацевтической промышленности в Российской Федерации до 2020 года одной из основных задач является разработка и создание отечественных лекарственных препаратов с полным производственным циклом на территории нашей страны. При этом проект Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации до 2030 года добавляет к импортозамещению задачу увеличения экспорта отечественных лекарственных препаратов на внешние рынки.

Учитывая данный факт, необходимо отметить, что препараты на основе лекарственного растительного сырья с каждым днем увеличивают свою популярность и применяются как для лечения, так и для профилактики заболеваний различной нозологии (Куркин В.А., 2014; Самылина И.А. и др., 2006; Martins Ekor, 2014), что, возможно, связано с низкой токсичностью данных препаратов при достаточно высокой эффективности, а также их сравнительной дешевизной по сравнению с синтетическими аналогами (Киселева Т.Л. и др., 2009; Куркин В.А., 2016; Самылина И.А. и др., 2004, 2008; Самбукова Т.В. и др., 2017; Pal S.K., 2003).

Особое место среди лекарственных растений в нашей стране и за её пределами занимают растения рода Боярышник (*Crataegus* L.), препараты на основе которых человечество с давних времен применяет для терапии сердечно-сосудистых заболеваний (Самылина И.А., 1990, 2010; Zorniak M., 2017; Jie Wang, 2013). Кроме того, положительное действие боярышника отмечено при атеросклерозе (Liu, 2009; Yang, 2011), расстройствах центральной нервной системы (Самылина И.А., 2007), а также описано наличие диуретического действия боярышника при длительном применении (Пастушенков Л.В., 1990). Лечебные свойства боярышника, как считается, обусловлены комплексом биологически активных соединений, включающим флавоноиды, процианидины, тритерпеновые сапонины, органические кислоты и др. (Киселева Т.Л. и др., 2007; Самылина И.А., 1990, 2007; Куркин В.А., 2016). Однако химический состав некоторых видов рода Боярышник не изучен в полной мере.

На сегодняшний день в России официальными считаются плоды и цветки 12 видов растений рода Боярышник, не все из которых обладают большой сырьевой базой на территории нашей страны. По этой причине важным является изучение химического состава и определение возможных полезных фармакологических свойств сырья широко распространенных фармакопейных и нефармакопейных видов рода Боярышник. Кроме того, в ходе изучения литературных источников нами были выявлены различия в методических и методологических подходах при анализе плодов, цветков и листьев боярышника, что подтверждает необходимость изучения химического состава сырья боярышника с целью разработки актуальных и научно обоснованных методик его стандартизации.

Без внимания остаются составляющие значительную часть фитомассы растения листья боярышника, которые совместно с цветками успешно применяются в странах Европейского союза и США, а в Республике Беларусь имеется отдельная фармакопейная статья на листья. Важно подчеркнуть, что за рубежом активно исследуются возможности применения листьев с цветками боярышника, а также их препаратов в терапии различных заболеваний (Leila Jalaly, 2015; Schmidt U., 1994). Данный факт подчеркивает

необходимость разработки отечественной нормативной документации для нового вида лекарственного растительного сырья – боярышника листья.

Таким образом, сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода Боярышник является актуальным.

Степень разработанности темы.

В настоящее время сырьё растений рода боярышник в Российской Федерации описывают статьи на цветки и плоды в ГФ РФ XIV издания.

Статья на листья боярышника в действующей фармакопее Российской Федерации не представлена. Отечественными учеными (Хасанова С.Р., 2016 г.) предложены методики качественного анализа листьев боярышника методом тонкослойной хроматографии в системе растворителей этилацетат – муравьиная кислота – вода (14:3:3) с обнаружением пятен стандартных образцов рутина, гиперозида и хлорогеновой кислоты, а также методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях боярышника спектрофотометрический методом в пересчете на рутин (Хасанова С.Р., 2016). В фармакопее Республики Беларусь для определения подлинности листьев боярышника используют качественные реакции с различными реагентами (аммония хлорид, раствор железа (III) и др.), а для целей количественного анализа - спектрофотометрическое определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин и спектрофотометрическое определение содержания суммы процианидинов в пересчете на цианидина хлорид. Рядом иностранных авторов описаны методики количественного определения флавоноидов в листьях боярышника методом жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием, а также методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием (Mudge E.M., 2016; Cheng S., 2007; Zhe G., 2013).

Таким образом, на сегодняшний день в нашей стране существуют фармакопейные методики качественного и количественного определения цветков и плодов боярышника, однако для листьев боярышника официальные методики не разработаны. Предложенные отдельными авторами методики анализа листьев боярышника различаются между собой. Кроме того, описанные методики относятся к разным видам рода боярышник, которые могут отличаться друг от друга по химическому составу.

Следовательно, исследования в области стандартизации лекарственного растительного сырья видов рода боярышник является актуальным.

Цель работы и основные задачи исследования.

Целью диссертационного исследования является фармакогностическое исследование некоторых видов рода Боярышник, произрастающих на территории Российской Федерации.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи.

1. Провести сравнительное морфолого-анатомическое исследование черешков листьев боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.) и боярышника однопестичного (*Crataegus monogyna* Jacq.).
2. Провести сравнительное фитохимическое исследование листьев боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.) и боярышника полумягкого (*Crataegus submollis* Sarg.).
3. Провести изучение химического состава листьев боярышника кроваво-красного.

4. Разработать методики качественного анализа для листьев боярышника кроваво-красного.
5. Разработать методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного.
6. Разработать показатели качества для листьев боярышника кроваво-красного.
7. Провести фармакологическое исследование по обоснованию целесообразности создания лекарственных растительных препаратов на основе сырья боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого.
8. Разработать проект фармакопейной статьи (ФС) на новый вид лекарственного растительного сырья – «Боярышника кроваво-красного листа».

Научная новизна

Морфолого-анатомическое исследование листьев боярышника кроваво-красного и листьев боярышника однопестичного позволило выявить характерные диагностические петиолярные признаки для данных видов сырья, заключающиеся в особенностях очертаний базальной, медиальной и апикальной части черешка, особенностях эпидермы и ее кутинизации, характере люминесценции кутина и протопласта, особенностях опушения, а также армирования проводящих пучков.

В ходе изучения химического состава листьев боярышника кроваво-красного впервые выделено флавоноидное вещество - 7-О-β-D-глюкопиранозид 5,7,3¹,5¹-тетрагидроксифлаванона, являющееся новым природным соединением. Впервые выделены и идентифицированы для листьев боярышника: кверцитрин, трифолин, 4-О-β-D-глюкопиранозид *n*-кумаровой кислоты, 3-О-β-D-глюкопиранозид эргостерина. Кроме того, в ходе колоночной хроматографии также выделены известные для данного растения вещества – витексин, 2''-О-рамнозид витексина, гиперозид, кофейная кислота и олеаноловая кислота.

Разработаны и описаны методики для качественного и количественного анализа флавоноидных соединений в листьях боярышника кроваво-красного. Качественный анализ с помощью метода тонкослойной хроматографии с использованием стандартного образца гиперозида предполагает определение отношения коэффициентов удерживания пятна, соответствующего 2''-О-рамнозиду витексина, к коэффициенту удерживания пятна, соответствующего гиперозиду. Предложенная методика количественного анализа заключается в определении суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина, содержание которого в листьях боярышника кроваво-красного должно быть не менее 2,5%.

Научная новизна данного диссертационного исследования подтверждена патентами Российской Федерации на изобретение: № 2669162 «Способ количественного определения суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного» (заявка № 2017146138, от 26.12.2017 г., решение о выдаче патента 08.10.2018 г.) и № 2677284 «Способ получения вещества, обладающего диуретической и антидепрессантной активностью» (заявка № 2018109667 от 19.03.2018 г., решение о выдаче патента 16.01.2019 г.).

Теоретическая и практическая значимость

Разработаны методики для качественного и количественного анализа флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного методами тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии. Предложенный качественный анализ методом ТСХ предполагает

использование гиперозида в качестве СО. Количественную оценку содержания суммы флавоноидов предлагается проводить методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина.

Разработаны показатели качества листьев боярышника кроваво-красного, включая числовые (содержания суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина не менее 2,5%). Разработан проект фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья - «Боярышника кроваво-красного листа».

Обосновано применение нового вида лекарственного растительного сырья «Боярышника кроваво-красного листа» в медицинской практике. Кроме того, определено, что боярышник полумягкий является перспективным растением, сырье которого может быть использовано для разработки и создания ЛРП.

Выявлено наличие антидепрессантной и диуретической активности для препаратов на основе плодов, цветков, листьев и побегов боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого. Определено, что жидкие экстракты на основе цветков, листьев и побегов боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого можно отнести к III классу токсичности (ГОСТ 12.1.007-76).

Для препаратов боярышника кроваво-красного установлено противомикробное действие в отношении ряда микроорганизмов (*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* и *Candida albicans*).

Результаты, полученные в ходе проведения диссертационного исследования, применяются в научном и учебном процессе в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России: на кафедре фармацевтической технологии, кафедре фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, кафедре управления и экономики фармации, кафедре химии фармацевтического факультета, в производственном процессе на ЗАО «Самаралектравы», в рабочем процессе в ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области».

Методология и методы исследования

Методология диссертационной работы базируется на глубоком изучении и системном обобщении литературных источников в области фармакогностического исследования видов рода Боярышник, оценки актуальности работы и степени разработки темы исследования. С учетом поставленной цели и задач был разработан план выполнения диссертационного исследования, были определены объекты и методы.

Объектами диссертационной работы являлись различные виды сырья растений рода Боярышник, собранные на территории Самарской области, промышленные образцы плодов боярышника, а также водно-спиртовые извлечения, полученные на основе сырья боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого. Данное исследование проводили с использованием цифровой и люминесцентной микроскопии, тонкослойной хроматографии (ТСХ), УФ-спектрометрии, масс-спектрометрии, ЯМР-спектроскопии, колоночной хроматографии, пробирочных и гистохимических реакций, фармакологических и микробиологических методов. Математическую обработку осуществляли с применением программного обеспечения в соответствии с ГФ РФ XIV издания.

Связь задач исследования с планами научных работ.

Диссертационная работа выполнялась согласно тематическому плану научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (№ Гос. регистрации 01200900568 до 28.04.2015; с 28.04.2015 № Гос. регистрации 115042810034; наименование НИОКР - «Комплексные исследования по разработке лекарственных средств природного и синтетического происхождения»).

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Результаты сравнительного морфолого-анатомического исследования петиолярных признаков листьев боярышника кроваво-красного и листьев боярышника однопестичного.
2. Результаты исследования химического состава листьев боярышника кроваво-красного.
3. Результаты исследований по разработке методик качественного и количественного анализа листьев боярышника кроваво-красного.
4. Данные по разработке показателей качества листьев боярышника кроваво-красного.
5. Результаты исследования фармакологической активности водно-спиртовых извлечений из сырья боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого.
6. Результаты исследования по разработке проекта ФС «Боярышника кроваво-красного листа».

Степень достоверности. Достоверность диссертационной работы подтверждена экспериментальными данными, полученными с использованием цифровой и люминесцентной микроскопии, колоночной хроматографии, тонкослойной хроматографии, УФ-спектрометрии, масс-спектрометрии, ЯМР-спектроскопии, химических, фармакологических и микробиологических методов анализа.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на областных, российских и международных конференциях: конференции студенческого научного общества «Мечниковские чтения - 2015» (г. Санкт-Петербург, 2015 г.), на XX Всероссийском конгрессе «Экология и здоровье человека» (г. Самара, 2015 г.); на Научной сессии молодых ученых и студентов – 2016 «Медицинский этюды» (г. Нижний Новгород, 2016 г.); на конференциях «Аспирантские чтения» (г. Самара, 2016, 2017, 2018 гг.); на I Межвузовской студенческой научно-практической конференции «Современные проблемы фармакогнозии» (г. Самара, 2016); на 91-ой Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Белые цветы» (г. Казань, 2017 г.); на 69-й итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых (Республика Беларусь, г. Витебск, 2017 г.); на V Научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (г. Москва, 2017 г.), на шестой Научной конференции с международным участием «Молодые ученые и фармацевтика XXI века» (Москва, 2018 г.), на Международной научной конференции теоретических и прикладных разработок «Научные разработки: евразийский регион» (г. Москва, 2019).

Публикации. По теме исследования опубликовано 25 печатных работ, из них 9 статей в журналах, рекомендуемых ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, получено 2 патента Российской Федерации на изобретение.

Внедрение результатов исследования. Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, используются в учебном и научном процессах ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России на кафедре фармацевтической технологии, кафедре фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, кафедре управления и экономики фармации, кафедре химии фармацевтического факультета, в производственном процессе на ЗАО «Самаралектравы», в рабочем процессе в ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области».

Личный вклад автора. Все описанные в диссертационной работе результаты исследований получены автором. Автором исследована петиолярная анатомия листьев боярышника кроваво-красного и боярышника однопестичного, выявлены характерные диагностические признаки листьев данных растений.

Проведена сравнительная оценка фитохимического состава листьев боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого, из листьев боярышника кроваво-красного выделено и идентифицировано 10 индивидуальных соединений, разработаны и обоснованы методики качественного и количественного определения листьев боярышника кроваво-красного. Для целей качественного и количественного определения флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного рекомендованы методы тонкослойной хроматографии и УФ-спектроскопии. Изучена антидепрессантная, диуретическая, антимикробная активность и острая токсичность жидких экстрактов на основе сырья боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого. Разработан проект фармакопейной статьи «Боярышника кроваво-красного листа».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Основные положения, описанные в диссертационном исследовании, соответствуют паспорту научной специальности 14.04.02 - «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) по пунктам: 2 – «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств»; 3 – «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления»; 5 – «Изучение вопросов рационального использования ресурсов лекарственного растительного сырья с учетом влияния различных факторов на накопление биологически активных веществ в сырье»; 6 – «Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе».

Объем и структура работы. Диссертационная работа описана на 139 страницах машинописного текста, данные изложены в форме 23 таблиц и представлены на 39 рисунках. Данная работа включает в себя введение, литературный обзор, объекты и методы исследования, 5 глав, представляющих результаты исследований, выводы и заключение, список литературы, который состоит из 131 источника, 38 из которых написаны на иностранном языке.

Во введении описаны актуальность, цели и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту, сведения о публикациях и апробации работы.

Глава 1 представляет собой обзор литературных источников отечественных и иностранных авторов в области фармакогностических исследований некоторых видов рода Боярышник (*Crataegus* L.). В главе подробно описаны данные, касающиеся ареала произрастания, химического состава, методик качественного и количественного анализа сырья боярышника кроваво-красного, боярышника однопестичного и боярышника полумягкого. Кроме того, в данной главе представлена информация о применении вышеуказанных видов боярышника в официальной и народной медицине России и других стран.

Глава 2 описывает объекты и методы исследования.

Глава 3 посвящена результатам сравнительного морфолого-анатомического исследования черешков листьев боярышника кроваво-красного и боярышника однопестичного.

В главе 4 описаны результаты сравнительного фитохимического исследования листьев боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого, приведены результаты выделения индивидуальных соединений из листьев боярышника кроваво-красного, данные по их химическому строению и структуре.

Глава 5 посвящена разработанным методикам качественного и количественного анализа листьев боярышника кроваво-красного.

Глава 6 описывает результаты исследования антидепрессантной, диуретической, противомикробной активности, а также острой токсичности жидких экстрактов на основе сырья боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого.

Диссертация завершается заключением, выводами, практическими рекомендациями, перспективами дальнейшей разработки и списком литературы.

В приложениях к работе представлены акты внедрения, патент РФ № 2669162 «Способ количественного определения суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного», патент РФ № 2677284 «Способ получения вещества, обладающего диуретической и антидепрессантной активностью», проект ФС «Боярышника кроваво-красного листа».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Объектами данной диссертационной работы являлись образцы сырья – плоды, цветки и листья боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.), листья боярышника однопестичного (*Crataegus monogyna* Jacq.), плоды, цветки и листья боярышника полумягкого (*Crataegus submollis* Sarg.), заготовленные в период с 2015 по 2017 гг.

В рамках диссертационной работы исследовались лекарственные растительные препараты: жидкие экстракты плодов, цветков, листьев и побегов боярышника кроваво-красного (на 70% этиловом спирте); жидкие экстракты плодов, цветков, листьев и побегов боярышника полумягкого (на 70% этиловом спирте), а также индивидуальные вещества: 4-О-β-D-глюкопиранозид *n*-кумаровой кислоты, 3-О-β-D-глюкопиранозид эргостерина, трифолин, кверцитрин, витексин, 2''-О-рамнозид витексина, гиперозид, кофейная кислота, олеаноловая кислота, 7-О-β-D-глюкопиранозид 5,7,3¹,5¹-тетрагидроксифлаванона.

Морфолого-анатомическое исследование осуществляли с использованием цифровых микроскопов марки «Motic DM-111» и «Motic DM-39C-N9GO-A», люминисцентного микроскопа Альтами-ЛЮМ-2 с увеличениями x40, x100, x400.

Изучение химического состава листьев боярышника кроваво-красного проводили методом адсорбционной жидкостной колоночной хроматографии с использованием силикагеля марки L 40/100 мкм (Чехия), сефадекс LH-20 (Швеция) и полиамида марки «Wolem» (Германия). Для исследования извлечений из изучаемого сырья, выделенных веществ и разработанных лекарственных растительных препаратов методом тонкослойной хроматографии использовали пластинки «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» и «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ» (Россия). Спектрофотометрическое исследование извлечений из сырья и разработанных препаратов проводили на спектрофотометрах «Specord 40» (Analytik Jena) и «СФ-2000» (СКБ Спектр) в кюветах с толщиной слоя 10 мм в диапазоне длин волн от 190 нм до 700 нм. ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектры регистрировали на приборе «Bruker AM 300» (300 МГц). Масс-спектры электронного удара регистрировали на приборе «Kratos MS-30».

С использованием фармакологических методов анализа проводилось исследование диуретической и антидепрессантной активности, а также острой токсичности водно-спиртовых извлечений на основе сырья боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого. Кроме того, метод двойных серийных разведений в бульоне был использован для определения антимикробного действия извлечений из изучаемого вида сырья.

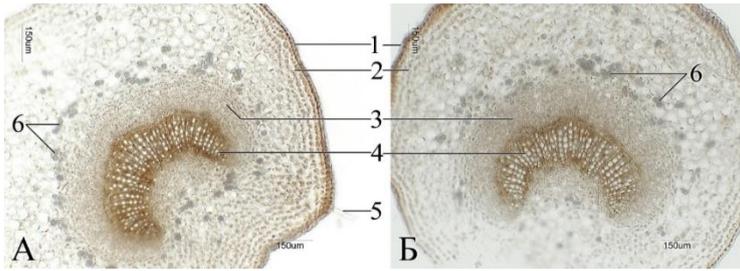
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Сравнительное морфолого-анатомическое исследование лекарственного растительного сырья некоторых видов рода Боярышник

Анатомическое строение листьев боярышника кроваво-красного подробно изложено в недавних работах отечественных ученых (Трофимова С.В., 2014; Хасанова С.Р., 2016]. При этом одним из значимых методов диагностики подлинности лекарственного растительного сырья является петиолярная анатомия (Сдобнина А.И., 2008). Строение черешка листа отличается разнообразием и видовой специфичностью и позволяет проводить адекватную диагностику среди близкородственных видов. По этой причине мы решили подробно остановиться на сравнительном изучении петиолярной анатомии листьев родственных фармакопейных видов боярышника - боярышника кроваво-красного и боярышника однопестичного.

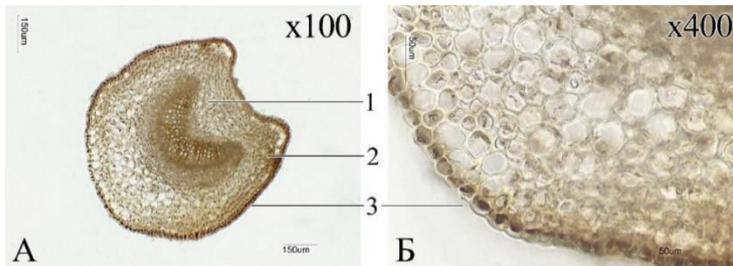
Черешок листа боярышника кроваво-красного достигает 3 см в длину, а черешок боярышника однопестичного - 2 см. У основания листа изучаемых видов боярышника имеются прилистники серповидно-изогнутой формы.

Базальная часть черешка боярышника кроваво-красного на поперечном сечении почти округлая с незначительной впадиной с верхней стороны листа (рис. 1). Срез медиальной части черешка боярышника кроваво-красного неровный с двумя сильно оттянутыми ребрами. Апикальная часть черешка угловатая, ребристая, со значительным жестким опушением (рис. 2).



Обозначения:
 1 – эпидермис;
 2 – колленхима;
 3 – флоэма;
 4 – ксилема;
 5 – трихома;
 6 – друзы.

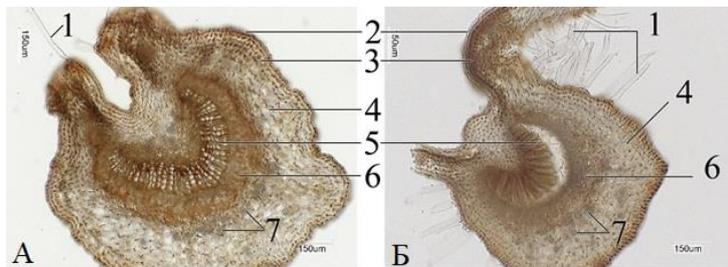
**Рисунок 1 - Черешок боярышника кроваво-красного, базальная часть.
 А, Б – общий вид (100)**



Обозначения:
 1 – железистая трихома;
 2 – эпидермис;
 3 – колленхима;
 4 – основная паренхима;
 5 – ксилема;
 6 – флоэма;
 7 - друзы

**Рисунок 2 - Черешок боярышника кроваво-красного.
 А – Медиальная часть (x100); Б – Апикальная часть (x100)**

Базальная часть черешка боярышника однопестичного на поперечном сечении округлая с незначительной впадиной с верхней стороны (рис. 3). Медиальная часть черешка боярышника однопестичного имеет два сильно оттянутых ребра, апикальная - угловато-ребристая (рис. 4).



Обозначения:
 1 – основная паренхима;
 2 – колленхима;
 3 – эпидермис

**Рисунок 3 - Базальная часть черешка боярышника однопестичного.
 Поперечный срез: А – Общий вид (x100); Б – Общий вид (x400)**

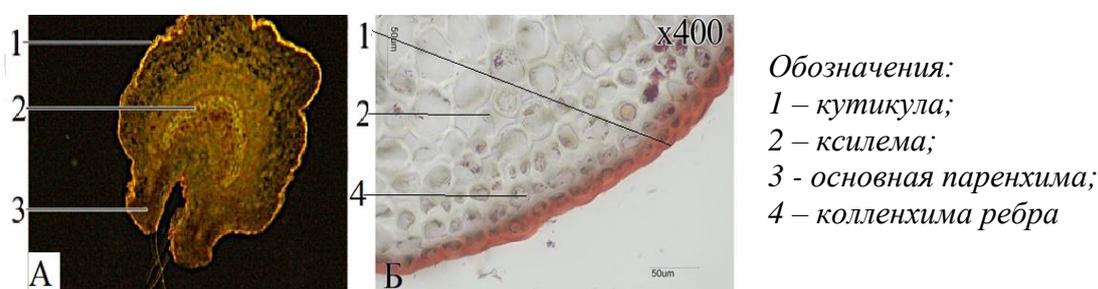


Обозначения:
 1 – эпидермис;
 2 – колленхима;
 3 – основная паренхима

**Рисунок 4 - Черешок боярышника однопестичного.
 Поперечный срез: А – Медиальная часть (x100); Б – Апикальная часть (x100)**

Проводящая система черешка боярышника кроваво-красного представлена одним закрытым коллатеральным пучком, расположенным в центре и имеющим форму полумесяца (рис. 1). Проводящие элементы ксилемы лигнифицированы, что подтверждается качественной реакцией с раствором сернокислого анилина. Кроме того, лигнифицированные элементы ксилемы в УФ-свете люминесцируют ярко-желтым светом. Черешок сильно паренхимизирован, в паренхиме встречаются крупные друзы оксалата кальция, по всей длине черешок боярышника кроваво-красного армирован уголковой колленхимой.

С поверхности черешок покрыт эпидермой со значительно утолщенной кутикулой, которая окрашивается Суданом III в розовый цвет. При освещении эпидермы УФ-светом кутикула люминесцирует ярко-желтым светом (рис. 5). Поверхность черешка боярышника кроваво-красного неоднородно опушена простыми кроющими трихомами бичевидной формы (рис. 6).

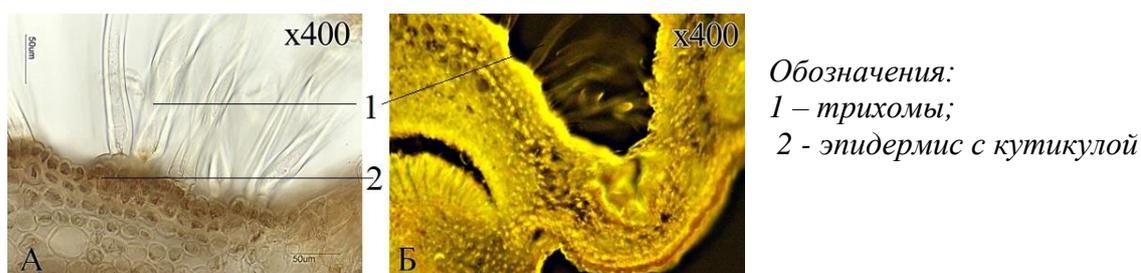


Обозначения:
 1 – кутикула;
 2 – ксилема;
 3 – основная паренхима;
 4 – колленхима ребра

Рисунок 5 - Черешок боярышника кроваво-красного.

А - Общий вид медиальной части, люминесценция (x40);

Б - Фрагмент кутикулы ребра черешка после окрашивания Суданом III (x400).



Обозначения:
 1 – трихомы;
 2 – эпидермис с кутикулой

Рисунок 6 - Апикальная часть черешка боярышника кроваво-красного.

Поперечный срез: А – фрагмент черешка (x400);

Б – фрагмент черешка, люминесценция (x400)

Проводящая система черешка боярышника однопестичного представлена закрытым коллатеральным пучком в форме полумесяца, который расположен в центре и утраивается к апикальной части черешка (рис. 3 и 4). Проводящие элементы ксилемы лигнифицированы, что подтверждается качественной реакцией с раствором сернокислого анилина. Лигнифицированные ксилемные элементы люминесцируют в УФ-свете. Черешок армирован уголковой колленхимой. Поверхность черешка покрыта эпидермой со слабозаметной кутикулой, окрашивающейся раствором Судана III в розовый цвет.

Черешок листа боярышника однопестичного не опушен, что отличает его от боярышника кроваво-красного.

2. Фитохимическое исследование сырья некоторых видов рода Боярышник

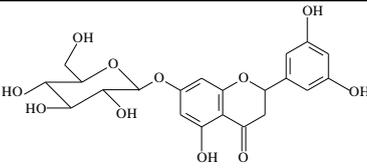
Сравнительный анализ качественного состава листьев боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого был проведен с использованием метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) и УФ-спектроскопии. Методом ТСХ в листьях боярышника кроваво-красного выявлено наличие гиперозида, и доминирующего вещества с R_f около 0,6. Для листьев боярышника полумягкого выявлено наличия гиперозида и рутина, а также подтверждено отсутствие вещества с R_f около 0,6.

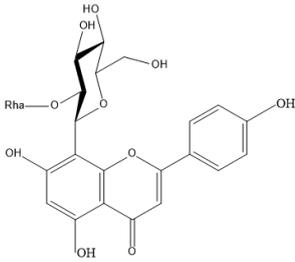
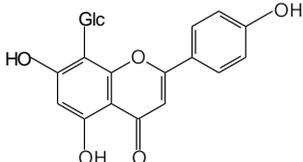
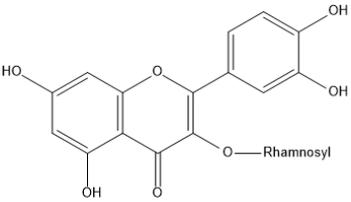
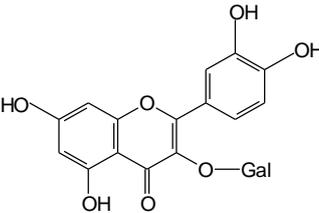
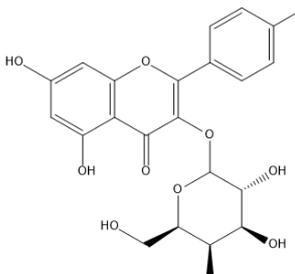
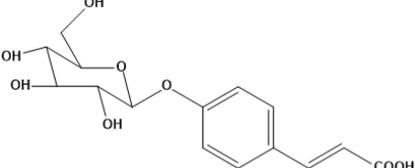
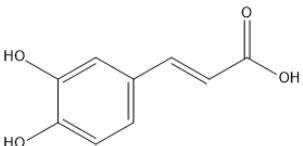
Для дополнительного подтверждения результатов анализа, полученных методом тонкослойной хроматографии, было проведено исследование извлечений из листьев боярышника кроваво-красного и листьев боярышника полумягкого методом УФ-спектроскопии. В результате был сделан вывод, что полученные дифференциальные спектры отличаются по значению длинноволнового максимума (около 392 нм для листьев боярышника кроваво-красного и около 412 нм для листьев боярышника полумягкого).

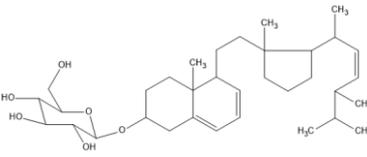
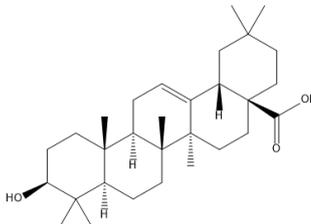
С целью подробного и глубокого изучения химического состава листьев боярышника кроваво-красного было проведено выделение биологически активных соединений методом колоночной хроматографии. Для определения химической структуры выделенных веществ использовали методы ^1H -, ^{13}C -ЯМР, УФ-спектроскопии, масс-спектрометрии, ТСХ, а также результаты реакции кислотного и ферментативного гидролиза.

В ходе исследования химического состава листьев боярышника кроваво-красного методом адсорбционной жидкостной колоночной хроматографии впервые для листьев боярышника кроваво-красного выделены и идентифицированы 4-О-β-D-глюкопиранозид *l*-кумаровой кислоты, 3-О-β-D-глюкопиранозид эргостерина, трифолин и кверцитрин, а также выделены известные для данного растения вещества – витексин, 2''-О-рамнозид витексина, гиперозид, кофейная кислота и олеаноловая кислота. Кроме того, впервые были выделено новое природное соединение, названное нами сангвинеозидом, которое имеет структуру 7-О-β-D-глюкопиранозид 5,7,3¹,5¹-тетрагидроксифлаванона (табл. 1).

Таблица 1 - Характеристики веществ, выделенных из экстракта листьев боярышника кроваво-красного методом колоночной хроматографии

№ п/п	Название соединения	Химическая формула	Характеристики
1.	Сангвинеозид (CS-7) $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$		Аморфное вещество светло-желтого цвета.

2.	2''-О-рамнозид витексина (CS-1) $C_{27}H_{30}O_{14}$		Светло-желтый кристаллический порошок.
3.	Витексин (CS-2) $C_{21}H_{20}O_{10}$		Светло-желтый кристаллический порошок.
4.	Кверцитрин (CS-6) $C_{21}H_{20}O_{12}$		Светло-желтое кристаллическое вещество.
5.	Гиперозид (CS-3) $C_{21}H_{20}O_{12}$		Светло-желтое аморфное вещество.
6.	Трифолин (CS-13) $C_{21}H_{20}O_{11}$		Светло-желтое кристаллическое вещество.
7.	4-О-β-D- глюкопиранозид <i>n</i> - кумаровой кислоты (CS-5) $C_{15}H_{18}O_6$		Кристаллы белого цвета.
8.	Кофейная кислота (CS-4) $C_9H_8O_4$		Кристаллическое вещество светло- желтого цвета.

9.	3-О-β-D- глюкопиранозид эргостерина (CS-9) C ₃₄ H ₅₄ O ₆		Аморфное вещество белого цвета.
10.	Олеаноловая кислота (CS-10) C ₃₀ H ₄₈ O ₃		Кристаллы белого цвета.

3. Разработка методик качественного и количественного анализа листьев боярышника кроваво-красного

В рамках данной диссертационной работы в ходе фитохимического исследования листьев боярышника кроваво-красного было обнаружено доминирующее вещество флавоноидной природы с величиной R_f около 0,6 - 2''-О-рамнозид витексина. Следовательно, на данное вещество целесообразно опираться при разработке методик качественного и количественного анализа листьев боярышника кроваво-красного.

3.1. Качественный анализ методом тонкослойной хроматографии

Предварительный фитохимический анализ показал, что при определении подлинности листьев боярышника кроваво-красного методом ТСХ в системе хлороформ – спирт этиловый – вода (26:16:3) на хроматограмме обнаруживаются зоны вещества с R_f около 0,5, соответствующая гиперозиду, и зона с R_f около 0,6, соответствующая 2''-О-рамнозиду витексина.

Вследствие отсутствия стандартного образца 2''-О-рамнозида витексина не представляется возможным использовать данное вещество в качестве раствора-свидетеля при определении подлинности листьев боярышника кроваво-красного. По этой причине нами предложен показатель R_{st} , который равняется отношению коэффициента удерживания (R_f) 2''-О-рамнозид витексина к коэффициенту удерживания гиперозида.

Суть методики заключается в том, что путем обнаружения доминирующего и диагностически значимого флавоноида - 2''-О-рамнозида витексина в присутствии стандартного образца гиперозида происходит последующий расчет величины R_{st} , которая должна быть равна 1,2. Наличие 2''-О-рамнозид витексина в извлечении из листьев боярышника кроваво-красного определяют по наличию доминирующего пятна желто-оранжевого цвета, величина R_f которого равняется примерно 0,6.

$$R_s = \frac{R_f (2'' - \text{О} - \text{рамнозид витексина})}{R_f(\text{гиперозида})} = \frac{0,6}{0,5} = 1,2$$

3.2. Качественный анализ методом УФ-спектроскопии

Дополнительно для определения подлинности сырья рекомендовано проведение спектроскопического анализа. Для кривой поглощения водно-спиртового извлечения листьев боярышника кроваво-красного характерно наличие двух максимумов поглощения: при длине волны 260 ± 2 нм и 330 ± 2 нм (рис. 3).

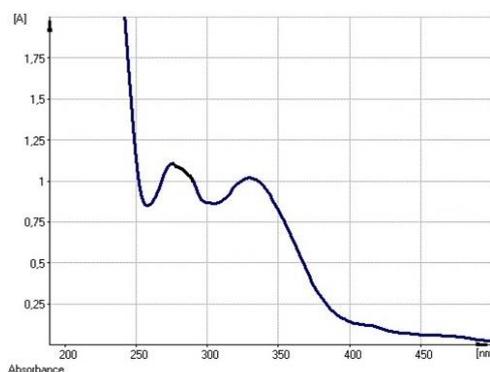


Рисунок 3 - Общий вид кривой поглощения водно-спиртового извлечения из листьев боярышника кроваво-красного

3.3. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного

Определено, что выделенный из листьев боярышника кроваво-красного 2''-О-рамнозид витексина во многом определяет характер кривой поглощения водно-спиртового извлечения из листьев боярышника кроваво-красного, особенно в дифференциальном варианте, а значит, является диагностически значимым веществом для данного вида сырья. Принимая во внимание тот факт, что максимумы поглощения раствора 2''-О-рамнозид витексина и водно-спиртового извлечения листьев боярышника кроваво-красного находятся в области 392 нм, целесообразным является определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина при длине волны 392 нм.

Результаты исследования зависимости различных параметров экстракции на выход действующих веществ из сырья показали, что оптимальными параметрами экстракции являются: измельчение сырья до размера частиц 2 мм, однократное извлечение 70% этиловым спиртом на кипящей водяной бане в течение 60 минут в соотношении «сырье-экстрагент» - 1:50.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного (метод дифференциальной спектрофотометрии).

Аналитическую пробу сырья боярышника кроваво-красного измельчают до размера частиц 2 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарирных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 минут. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова

взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через рыхлый комочек ваты или фильтр с красной полосой и остужают в течение 30 минут (извлечения из листьев).

Испытуемый раствор для анализа суммы флавоноидов готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 95% этиловым спиртом (испытуемый раствор).

Раствор сравнения готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу на 25 мл, доводят объем раствора до метки 95% этиловым спиртом (раствор сравнения).

Для расчета содержания суммы флавоноидов готовят раствор стандартного образца 2''-О-рамнозид витексина, добавляют к нему 3% спиртовой раствор алюминия хлорида, измеряют оптическую плотность окрашенного комплекса при аналитической длине волны 392 нм и определенное значение оптической плотности используют в формуле расчета.

Приготовление раствора стандартного образца 2''-О-рамнозид витексина.

Около 0,02 г (точная навеска) 2''-О-рамнозид витексина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 96% этиловом спирте. Затем содержимое колбы доводят 96% этиловым спиртом до метки (раствор А 2''-О-рамнозид витексина). После чего 1 мл раствора А 2''-О-рамнозид витексина помещают в мерную колбу на 25 мл, добавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида, затем доводят объем раствора до метки 95% этиловым спиртом. Раствор сравнения готовят следующим образом: 1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу на 25 мл, доводят объем раствора до метки 95% этиловым спиртом.

Измерение оптической плотности проводят при длине волны 392 нм через 40 минут после приготовления всех растворов.

Содержание суммы флавоноидов (X в процентах) в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина и абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * m_0 * 50 * 1 * 25 * 100 * 100}{D_0 * m * 50 * 1 * 25 * (100 - W)},$$

где:

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца 2''-О-рамнозид витексина;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса стандартного образца 2''-О-рамнозид витексина, г;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

В случае отсутствия стандартного образца 2''-О-рамнозид витексина для расчета целесообразно использовать теоретическое значение его удельного показателя поглощения, равное 232:

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

где:

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса стандартного образца 2''-О-рамнозид витексина, г;

232 – удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) стандартного образца 2''-О-рамнозид витексина при 392 нм;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

Результаты статистической обработки проведенных опытов показывают, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 1,57\%$. Содержание суммы флавоноидов варьировало от $2,65 \pm 0,05\%$ до $3,53 \pm 0,06\%$. Следовательно, в качестве нижнего предела содержания суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного следует рекомендовать значение не менее 2,5%, причем в пересчете на доминирующий, диагностически значимый флавоноид – 2''-О-рамнозид витексина, а не на другие флавоноиды.

Метрологические характеристики метода количественного определения суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного отражены в таблице 2.

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

n	F	\bar{X}	S^2	S	P (%)	T (P, f)	ΔX	E, %
11	10	3,38	0,00623	0,0789	95 %	2,23	$\pm 0,053$	$\pm 1,57\%$

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов листьев боярышника кроваво-красного и 2''-О-рамнозид витексина с алюминия хлоридом. Линейность методики определяли для серии растворов 2''-О-рамнозид витексина (с концентрациями в диапазоне от 0,00250 до 0,03904 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0,99997. Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора 2''-О-рамнозид витексина с известной концентрацией (25%, 50% и 75 %) к испытуемому раствору. При этом открываемость методики находилась в пределах от 98% до 102%.

4. Фармакологическое исследование по обоснованию целесообразности создания лекарственных растительных препаратов на основе сырья боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого

В ходе проведения исследования антидепрессантной активности водно-спиртовых извлечений из сырья боярышника кроваво-красного было выявлено, что антидепрессантная активность увеличивается в следующем ряду: плоды – побеги – цветки. Для жидких экстрактов сырья боярышника полумягкого антидепрессантная активность увеличивается в следующем ряду: листья – плоды – побеги – цветки. Изучена диуретическая активность жидких экстрактов на основе сырья боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого. В результате было выявлено, что жидкий экстракт листьев боярышника кроваво-красного в дозе 100 мкл/кг обладает коротким латентным периодом, длительным

диуретическим и салуретическим действием (канальцевый эффект), проявляя к концу 24 часового эксперимента креатининуретические свойства (клубочковый эффект). Жидкие экстракты цветков, побегов и листьев боярышника полумягкого в дозе 100 мкл/кг угнетают экскреторную функцию почек.

Проведено исследование противомикробного действия жидких экстрактов сырья боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого. В результате было установлено, что жидкие экстракты на основе сырья боярышника полумягкого практически не оказывают антимикробного действия. В то время как жидкие экстракты плодов, цветков и листьев боярышника кроваво-красного в несколько раз превышают действие чистого экстракта и подавляют рост *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* и *Candida albicans*.

На основании данных, полученных в результате проведенных исследований по изучению острой токсичности, жидкие экстракты цветков, листьев и побегов боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого были отнесены к III классу токсичности (ГОСТ 12.1.007-76).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное фармакогностическое исследование некоторых видов рода Боярышник (*Crataegus* L.) позволило сделать следующие **общие выводы**:

1. Проведенное сравнительное морфолого-анатомическое исследование листьев боярышника кроваво-красного и боярышника однопестичного позволило выявить основные отличительные признаки черешка обоих видов боярышника. Основными петтиолярными признаками боярышника кроваво-красного являются: особенности очертания в базальной, медиальной и апикальной части, значительная кутинизация эпидермы, характер люминесценции кутина и протопласта, опушение, локализованное, в основном, в апикальной части черешка. Основными признаками петтиолярной анатомии черешка боярышника однопестичного являются: армирование проводящего пучка уголкового колленхимой; слабозаметная кутинизация эпидермы; отсутствие опушения.

2. В результате проведенного сравнительного фитохимического исследования листьев боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого методом ТСХ в листьях боярышника полумягкого не обнаружено 2''-О-рамнозида витексина, доминирующего в листьях боярышника кроваво-красного. С помощью метода дифференциальной УФ-спектроскопии выявлено, что листья боярышника кроваво-красного и листья боярышника полумягкого имеют различные значения длинноволнового максимума.

3. Из листьев боярышника кроваво-красного с использованием колоночной хроматографии, реакций кислотного и ферментативного гидролиза, ТСХ, УФ-спектроскопии, ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии впервые для данного вида сырья выделены и идентифицированы 4-О-β-D-глюкопиранозид *n*-кумаровой кислоты, 3-О-β-D-глюкопиранозид эргостерина, трифолин и кверцитрин, а также выделены известные для плодов боярышника кроваво-красного вещества – витексин, 2''-О-рамнозида витексина, гиперозид, кофейная и олеаноловая кислота. Впервые выделено новое природное вещество, названное нами сангвинеозидом, которое имеет структуру 7-О-β-D-глюкопиранозид 5,7,3¹,5¹-тетрагидроксифлаванона.

4. Разработана методика качественной оценки листьев боярышника кроваво-красного методом тонкослойной хроматографии с использованием стандартного образца гиперозида. Путем обнаружения доминирующего и диагностически значимого флавоноида - 2''-О-рамнозида витексина в присутствии стандартного образца гиперозида происходит последующий расчет величины R_{st} , которая должна быть равна 1,2. Кроме того, оценка подлинности листьев боярышника кроваво-красного возможна при использовании УФ-спектроскопии, кривая поглощения спирто-водного извлечения из листьев боярышника кроваво-красного имеет два максимума: при длине волны 260 ± 2 нм и 330 ± 2 нм.

5. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина в листьях боярышника кроваво-красного методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 392 нм. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина в качественном сырье «Боярышника кроваво-красного листа» варьирует в пределах от $2,65\% \pm 0,05\%$ до $3,53\% \pm 0,05\%$.

6. Разработаны показатели качества листьев боярышника кроваво-красного. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина в качественном сырье листьев боярышника кроваво-красного должно быть не менее 2,5%.

7. В результате изучения диуретической активности жидких экстрактов на основе сырья боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого было выявлено, что только жидкий экстракт листьев боярышника кроваво-красного при однократном внутрижелудочном введении в дозе 100 мкл/кг обладает диуретическим действием.

8. В результате изучения антидепрессантной активности жидких экстрактов сырья боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого обнаружено, что для жидких экстрактов боярышника кроваво-красного при однократном внутрижелудочном введении в дозе 100 мкл/кг антидепрессантная активность увеличивается в следующем ряду: экстракт плодов – экстракт побегов – экстракт цветков. Антидепрессантная активность жидких экстрактов боярышника полумягкого при однократном внутрижелудочном введении в дозе 100 мкл/кг увеличивается в следующем ряду: экстракт листьев – экстракт плодов – экстракт побегов – экстракт цветков.

9. В соответствии с результатами фармакогностических исследований разработан проект фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья – «Боярышника кроваво-красного листа».

Практические рекомендации

Результаты диссертационной работы позволяют усовершенствовать подходы к стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды, и могут быть использованы в учебном процессе по курсам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия», а также в центрах сертификации и контроля качества лекарственных средств и на фармацевтических предприятиях.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Проведение диссертационного исследования имеет научно-практическое значение для фармакогнозии и фармацевтической химии, в том числе с целью дальнейшего изучения химического состава растений, содержащих флавоноиды, а также разработки

объективных методик анализа и подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Куркин, В.А. Диуретическая и антидепрессивная активность густого экстракта из плодов боярышника кроваво-красного / В.А. Куркин, А.В. Куркина, Е.Н. Зайцева, А.В. Дубищев, О.Е. Правдивцева, Т.В. Морозова // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2015. – Т.14. - № 3. – С. 18-22.
2. Морозова, Т.В. Фармакогностическое и фармакологическое исследование сырья боярышника / Т.В. Морозова, А.В. Куркина, О.Е. Правдивцева, А.В. Дубищев, В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева // **Известия Самарского научного центра Российской академии наук**. - 2015. – Т. 17. - № 5(3). – С. 959-963.
3. Морозова, Т.В. Антидепрессантная активность экстрактов боярышника кроваво-красного / Т.В. Морозова, В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, А.В. Дубищев, А.В. Куркина, О.Е. Правдивцева, Н.А. Волкова // **Фармация**. – 2017. - № 4. – С. 37-39.
4. Куркин, В.А. Исследование по разработке методики стандартизации листьев боярышника кроваво-красного / В.А. Куркин, Т.В. Морозова, О.Е. Правдивцева // **Химия растительного сырья**. – 2017. - № 3. – С. 169-173.
5. Морозова, Т.В. Сравнительное фитохимическое исследование плодов, побегов и цветков некоторых видов рода боярышник / Т.В. Морозова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Т.М. Жавкина, С.А. Розно // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2018. - № 1-2. – С. 22-24.
6. Куркин, В.А. Изучение флавоноидов и антидепрессантной активности листьев и жидкого экстракта боярышника полумягкого / В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, Т.В. Морозова, О.Е. Правдивцева, Е.В. Авдеева, А.В. Куркина, А.И. Агапов // **Химия растительного сырья**. – 2018. - № 4. – С. 105-112.
7. Куркин, В.А. Исследование диуретического и антидепрессантного действия экстрактов *Crataegus sanguinea* Pall. / В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, Т.В. Морозова, О.Е. Правдивцева, А.В. Дубищев, А.В. Куркина, Е.В. Авдеева, А.И. Агапов, М.В. Белоусов // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2018. – Т. 17. - № 4. – С. 65-71.
8. Куркин, В.А. Компоненты листьев *Crataegus sanguinea* / В.А. Куркин, Т.В. Морозова, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина, Е.Д. Даева, В.И. Каденцев // **Химия природных соединения**. – 2019. - № 1. – С. 21-23.
9. Куркин, В.А. Количественное определение суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного / В.А. Куркин, Т.В. Морозова, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина // **Химико-фармацевтический журнал**. – 2018. – Т. 52. - № 10. – С. 34-38.
10. Морозова, Т.В. Актуальные проблемы химической стандартизации сырья лекарственных растений рода Боярышник (*Crataegus* L.) / Т.В. Морозова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // **Фармация и фармакология**. - 2018. – Т. 6. - № 2. – С. 104-120.
11. Kurkin, V.A. Constituents from Leaves of *Crataegus sanguinea* / V.A. Kurkin, T. V. Morozova, O. E. Pravdivtseva, A. V. Kurkina, E. D. Daeva, V. I. Kadentsev // **Chemistry of Natural Compounds**. – 2019. – Vol. 55, No. 1. - P. 21-24.
12. Куркин, В.А. Изучение химического состава препаратов на основе сырья боярышника / В.А. Куркин, А.В. Куркина, О.Е. Правдивцева, Т.В. Морозова //

«Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» материалы IX Международного симпозиума. - Москва, 2015. – С. 578-580.

13. Морозова, Т.В. Содержание суммы флавоноидов в листьях различных видов рода боярышник / Т.В. Морозова, О.Е. Правдивцева, В.А. Куркин // Сборник статей I Международной (71 Всероссийской) научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения». - Екатеринбург, 2016. – Т. 3. С. 2803-2806.

14. Правдивцева, О.Е. Разработка методики стандартизации листьев боярышника кроваво-красного / О.Е. Правдивцева, В.А. Куркин, А.В. Куркина, Т.В. Морозова // Сборник научных трудов международной конференции «Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине», посвященной 85-летию ВИЛАР. – Москва, 2016. - С. 406-409.

15. Морозова, Т.В. Сравнительное фитохимическое исследование сырья различных видов рода *Crataegus* L. / Т.В. Морозова, О.Е. Правдивцева // Сборник материалов I Межвузовской студенческой научно-практической конференции «Современные проблемы фармакогнозии». – Самара, 2016. – С. 105-109.

16. Волкова, Н.А. Изучение препаратов боярышника кроваво-красного / Н.А. Волкова, Т.В. Морозова, В.А. Куркин // Материалы 89-й международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Теоретические и практические аспекты современной медицины». – Симферополь, 2017. - С. 587-588.

17. Яббарова, Г.Р. Получение водных извлечений из сырья боярышника кроваво-красного / Г.Р. Яббарова, Т.В. Морозова // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. – Уфа, 2017. – С. 697-702.

18. Морозова, Т.В. Содержание суммы флавоноидов в препаратах боярышника кроваво-красного / Т.В. Морозова, В.А. Куркин // Сборник тезисов 91-й Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых. – Казань, 2017. – С. 450-451.

19. Морозова, Т.В. Содержание суммы флавоноидов в сырье боярышника полумягкого / Т.В. Морозова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // Материалы V научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине». – Москва, 2017. – С. 151-152.

20. Морозова, Т.В. Сравнительное исследование содержания суммы флавоноидов в препаратах на основе плодов боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.) / Т.В. Морозова, В.А. Куркин // Материалы научно-практической конференции с международным участием «Научные достижения молодых ученых XXI века в рамках приоритетных направлений стратегии научно-технологического развития страны» Аспирантские чтения-2017. – Самара, 2017. – С. 177.

21. Морозова, Т.В. Сравнительный фитохимический анализ сырья некоторых видов рода Боярышник (*Crataegus* L.) / Т.В. Морозова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // Материалы XVII международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых и II Форума молодежных научных обществ. – Витебск, 2017. – С. 251-252.

22. Куркин, В.А. Содержание суммы флавоноидов в препаратах плодов боярышника кроваво-красного / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Л.Д. Климова, Т.В. Морозова, Н.А.

Волкова, Г.Ф. Гамирова // Вестник пермской государственной фармацевтической академии. – Пермь, 2017. - № 20. – С. 176-178.

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

24. Морозова, Т.В. Изучение извлечений из листьев боярышника кроваво-красного и боярышника полумягкого / Т.В. Морозова, Н.А. Волкова, А.А. Кретьева // Сборник материалов конференции «Молодая фармация – потенциал будущего». – Санкт-Петербург, 2018. – С. 634-635.

25. Морозова, Т.В. Морфолого-анатомическое исследование черешков листьев боярышника кроваво-красного и листьев боярышника однопестичного / Т.В. Морозова, Н.А. Волкова, В.А. Куркин // Материалы международной научной конференции теоретических и прикладных разработок «Научные разработки: евразийский регион». – Москва, 2019. – С. 62-66.

Патенты

1. Патент РФ на изобретение 2669162. - (заявка № 2017146138, от 26.12.2017 г) «Способ количественного определения суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного» / В.А. Куркин, Т.В. Морозова. – Решение о выдаче патента 08.10.2018 г.

2. Патент РФ на изобретение 2677284. – А61К36/734 (заявка № 2018109667 от 19.03.2018 г) «Способ получения вещества, обладающего диуретической и антидепрессантной активностью» / В.А. Куркин, Т.В. Морозова, О.Е. Правдивцева, Е.Н. Зайцева, А.В. Куркина. – Решение о выдаче патента 16.01.2019 г.