

*На правах рукописи*

*А. Март*

**МАРТЫНОВ АЛЬБЕРТ МИХАЙЛОВИЧ**

**ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ВИДЫ РОДА VIOLA L. ФЛОРЫ ВОСТОЧНОЙ  
СИБИРИ, ИХ ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И  
СТАНДАРТИЗАЦИЯ**

**14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия**

**АВТОРЕФЕРАТ**

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

**Улан-Удэ – 2021**

Работа выполнена в Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиале ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный консультант:**

**Даргаева Тамара Дарижаповна** – доктор фармацевтических наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Потанина Ольга Георгиевна** – доктор фармацевтических наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования РФ / Центр научных исследований и разработок Центра коллективного пользования (научно-образовательный центр), директор

**Анцупова Татьяна Петровна** – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» Министерства науки и высшего образования РФ / кафедра неорганической и аналитической химии, профессор

**Лубсандоржиева Пунцык-Нима Базыровна** – доктор фармацевтических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей и экспериментальной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук / лаборатория медико-биологических исследований, старший научный сотрудник

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ

Защита состоится «25» июня 2021 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 999.140.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН по адресу: 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке Бурятского научного центра СО РАН и на сайте ИОЭБ СО РАН: <http://igeb.ru>.

Автореферат разослан «22» марта 2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
д.б.н., доцент



Хобракова Валентина Бимбаевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Природные ресурсы, в частности лекарственные растения, издавна служили источником получения лечебных средств, применяемых при различных заболеваниях. Несмотря на увеличивающийся ассортимент эффективных синтетических лекарственных средств, интерес к растительным объектам и препаратам растительного происхождения не снижается. За счет многокомпонентного состава препараты растений оказывают поливалентное действие на различные звенья патологического процесса. Как правило, они обладают меньшей токсичностью, более плавным действием и относительно редкими аллергическими реакциями в сравнении с синтетическими лекарственными средствами, что позволяет их рекомендовать для длительной терапии, особенно при лечении хронических заболеваний (С.Я. Соколов, 2000; Г.К. Никонов, Б.М. Мануйлов, 2011). Лекарственные препараты, получаемые из растений, достаточно широко применяются в медицинской практике при различных патологиях, в том числе при заболеваниях органов дыхания (А.Ф. Новикова, 2000; С.М. Николаев, 2012; K. Hiller, 1990; R. Weiss, V. Fintelmann, 2004).

Заболевания органов дыхания – группа самых распространенных патологий человека, преобладающая у больных, обращающихся к врачам общей практики. Важное клиническое значение этих заболеваний связано с риском осложнений и формированием хронических форм, таких как хронический риносинусит, хронический бронхит и др. В связи с этим лечение заболеваний органов дыхания на сегодняшний день остается актуальной проблемой современной медицины. Согласно статистике Минздрава РФ, в 2016 году было зафиксировано более 20,8 тысяч случаев заболеваний органов дыхания на каждые 100 тысяч человек взрослого населения России (от 18 до 55 лет) <https://polit.ru/news/2017/08/22/ill/>. К факторам, способствующим их росту, относятся: жесткие климатические условия на значительной территории РФ, техногенная загрязненность окружающей среды, повышение резистентности микрофлоры к новым поколениям антибиотиков и т.д.

В комплексной терапии заболеваний органов дыхания часто используются препараты растительного происхождения, в частности, виды рода фиалка (сем. *Violaceae*). В РФ разрешены к применению в медицинской практике два представителя этого семейства: фиалка трехцветная – *Viola tricolor* L. и фиалка полевая – *V. arvensis* Murr., они также используются в качестве лечебных средств во многих странах мира. Эти виды относятся к наиболее изученным, в их составе содержатся флавоноиды, кумарины, фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты,

полисахариды и другие БАВ. Остальные многочисленные представители этого рода флоры нашей страны в большинстве своем мало изучены, а имеющиеся сведения по их химическому составу нередко противоречивы.

Во флоре Сибири род *Viola* L. представлен четырьмя десятками видов, и почти все они не исследованы, в то же время многие из них применяются в народной медицине в качестве отхаркивающих, ранозаживляющих, противовоспалительных, противоаллергических, мочегонных, седативных и других средств. Изучение викарных видов рода фиалка, распространенных в Сибири, открывает новые возможности по расширению ассортимента лекарственных средств растительного происхождения.

**Степень разработанности темы исследования.** Многие виды рода фиалка достаточно богаты по составу БАВ: флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, полисахаридов и других природных соединений. В химическом отношении наиболее изучены фиалка трехцветная – *Viola tricolor* L. и фиалка полевая – *V. arvensis* Murr. Большое количество исследований проведено по установлению состава флавоноидов, фенольных кислот, полисахаридов (Е.И. Забазная, 1985; H.Zhu, S. Qin, N. Zhang, 2015).

В траве *V. tricolor* и *V. arvensis* обнаружены рутин, кверцетин и другие фенольные соединения (Р.А. Бубенчиков, 2004; E. Kolosne Pethes, 1965; M. Vinzene-Vermes, G. Marczal, 1974; V. Vukics, 2008). Много работ опубликовано по исследованию других видов: *Viola hederacea* – B. Chen, M. L. Colgrave, 2005; *Viola yedoensis* – C. Wang, M. L. Colgrave, K. R. Gustafson, 2008; *Viola odorata* – HS. Siddiqi, MN. Mehmood, 2012. Из надземной части *V. tricolor* E. Svängård с соавт. выделили циклотиды (cyclotides), представляющие собой короткие (низкомолекулярные) циклические пептиды (E. Svängård, U. Göranson, Z. Nosaoglu, 2004). Проведены исследования по получению и стандартизации сухого экстракта фиалки трехцветной (М.М. Смирнова, 2004).

Значительное количество исследований посвящено определению фармакологических свойств извлечений, полученных из сырья представителей рода *Viola* L. Установлено, что они обладают антиоксидантным действием (P. Pietta, 2000; V. Vukics, 2008); отхаркивающим, антимикробным, противовоспалительным, диуретическим и другими свойствами (О.А. Блинова, И.П. Рудакова, Г.И. Олешко, 2005; Р.А. Бубенчиков, 2011; W. Вука, I. Matlawska, 2005; M Y. Lee, JE. Yuk, 2010).

Таким образом, исследование химического состава, стандартизация сырья, установление фармакологических свойств видов рода *Viola* L. флоры Восточной Сибири в целях создания новых лекарственных средств растительного происхождения являются актуальными задачами.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы является разработка научно-методического обоснования использования перспективных видов рода *Viola* L. флоры Восточной Сибири как источников новых растительных средств.

Для достижения указанной цели предстояло решить следующие задачи:

- провести информационно-аналитические исследования современного состояния викарных видов рода *Viola* флоры Восточной Сибири и определить перспективные объекты;
- выделить индивидуальные фенольные соединения и установить их структуру;
- выделить полисахаридные комплексы и исследовать их моносахаридный состав;
- определить ресурсный потенциал перспективных видов рода *Viola*;
- провести макро- и микроскопические исследования изучаемых видов, установить диагностически значимые признаки;
- разработать методики качественного и количественного определения основных групп биологически активных соединений исследуемых видов;
- разработать технологию получения экстракта густого, комплексов водорастворимых полисахаридов и пектиновых веществ из травы *Viola uniflora* с использованием ресурсосберегающей технологии;
- на основе сырья фиалки разработать растительный сбор «Бронхолисан», установить показатели подлинности, разработать методики определения содержания основных БАВ и установить их нормы;
- подготовить и предложить нормативную документацию (проект ФС) на *Viola uniflora* траву – на экстракт густой *Viola uniflora* и лекарственный сбор «Бронхолисан».

**Научная новизна работы.** Результаты проведенных исследований позволили теоретически аргументировать и экспериментально подтвердить возможность применения близкородственных видов рода *Viola* L. в качестве дополнительных ресурсных источников лекарственного растительного сырья.

Методами физико-химического анализа: БХ, ТСХ, ВЭЖХ, ГЖХ, хромато-масс-спектрометрии, УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии – впервые установлен состав основных групп биологически активных природных соединений в исследуемых растительных объектах и в сборе на их основе.

В восьми видах рода *Viola*, распространенных в Восточной Сибири, выделены и идентифицированы 28 фенольных соединений (18 флавоноидов, 7 оксикоричных кислот, 3 кумарина), из них 24 соединения для данного видового состава описаны впервые.

Флавоноиды в указанных видах представлены группами флавонола: апигенином, лютеолином и их гликозидами – витексином, ориентином и цинарозидом; производные флавонола – кверцетин, кемпферол и их гликозидами – рутином, кверцимеритрином; флаваноны – нарингенином, гесперидином; флаванолы – дигидрокверцетин; фенолкарбоновые кислоты – галловой, оксикоричные кислоты – коричной, кофейной, хлорогеновой, неохлорогеновой, феруловой, цикориевой. Доминирующими среди фенолкарбоновых кислот является галловая кислота, из оксикоричных – кофейная кислота. Доказано во всех указанных представителях подрода (*Nomimium*, *Dischidium*, *Chamaemelanium*) наличие галловой и кофейной кислот. Для видов секции *Rosulantes* (*V. arenaria*, *V. sacchalinensis*) характерны флавоноидный С-гликозид витексин, О- гликозид афзелин и рутин. Представители секции *Violidum* (*V. brachyceras*, *V. patrinii*) содержат в своем составе флавоноид апигенин, *V. selkirkii* – С-гликозид апигенина витексин. Для *V. langsdorffii*, относящейся к секции *Arction*, характерно содержание С-гликозида ориентина; *V. uniflora* (подрод *Chamaemelanium*) накапливает в своем составе кверцетин и его О-гликозид рутин; в сырье *V. biflora* (подрод *Dischidium*) содержится кверцимеритрин. Хемотаксономическим маркером исследуемых видов рода фиалка среди фенольных кислот является галловая (3, 4, 5 триоксibenзойная) кислота, из группы флавонолов – рутин (кверцетин-3-О-рутинозид). Выделены и исследованы полисахаридные комплексы: водорастворимые полисахариды (ВРС), пектиновые вещества (ПВ), гемицеллюлозы А (ГЦ А) и Б (ГЦ Б). Установлен качественный состав и содержание моносахаридов в полисахаридных комплексах изучаемых видов. Разработана и предложена методика определения содержания сахаров в сырье с использованием спектрофотометрии вместо гравиметрического метода.

Впервые с использованием метода газожидкостной хромато-масс-спектрометрии исследован состав липофильной фракции видов рода фиалка, в результате идентифицировано 24 соединения. Из ненасыщенных кислот преобладают линолевая и линоленовая кислоты, насыщенные кислоты большей частью представлены п-гексадекановой кислотой (производное пальмитиновой кислоты). В указанных видах установлен состав органических кислот, аминокислот, макро- и микроэлементов. Выполнены макро- и микроскопические исследования видов и установлены диагностически значимые признаки, дающие возможность проводить диагностику сырья близкородственных видов.

Разработана схема переработки сырья *V. uniflora* при получении экстракта густого с последующим выделением водорастворимых полисахаридов и пектиновых веществ. Получен сбор «Бронхолисан» в составе фиалки одноцветковой трава, чабреца трава и солодки корни, в котором

идентифицированы 15 веществ фенольной структуры. В эфирном масле сбора обнаружено 49 соединений и в липофильной фракции – 33 компонента. В предложенном сборе установлен состав аминокислот, а также макро- и микроэлементов.

В целом, результаты исследований впервые дополняют данные по химическому составу растений рода фиалка с диагностическими отличиями их, аргументируют взаимозаменяемость и расширяют сырьевую базу для создания новых лекарственных средств.

**Практическая значимость работы.** В качестве дополнительных источников лекарственного растительного сырья предложены *Viola uniflora* L., *V. sachalinensis* Boiss. и *V. langsdorffii* Fisch. ex Ging. Проведенные фармакогностические исследования указанных видов, распространенных в Восточной Сибири, показали перспективность их применения в качестве средств для профилактики и лечения заболеваний органов дыхания.

Разработаны и предложены методики определения содержания суммы флавоноидов, фенолкарбоновых кислот и полисахаридов.

По результатам исследований разработана нормативная документация и получены свидетельства о государственной регистрации на *V. uniflora* траву ТУ № RU.77.99.11.003.E.008302.04.11. от 01.04.2011 г. и на растительный сбор «Бронхолисан» № RU.77.99.11.003.E.043294.10.11. от 17.10.2011 г. для ООО фармацевтической фирмы «Шалфей».

По итогам работы опубликована монография «Фитотерапия заболеваний органов дыхания» (Иркутск, 2008, 144 с.).

Материалы диссертационных исследований используются в учебном процессе кафедр фармации Тюменского ГМУ ИНПР и ИГМАПО в курсе лекций «Лекарственные растения как источник биологически активных веществ и их анализ» на циклах повышения квалификации по специальности «Фармацевтическая химия, фармакогнозия», «Фармацевтическая технология». Результаты исследований внедрены в работу АО «Клинический курорт «Ангара», ГБУЗ «ЦС и ККЛ ДЗ «Центр сертификации и контроля качества лекарств Департамента здравоохранения г. Москвы», а также в производстве ООО фармацевтической фирмы «Шалфей» и ООО «Травы Башкирии».

**Основные положения, выносимые на защиту:**

– теоретическое и экспериментальное обоснование перспективности использования викарных видов рода фиалка, распространенных в Восточной Сибири, для получения на их основе эффективных растительных препаратов, необходимых для лечения заболеваний органов дыхания;

– результаты изучения химического состава перспективных видов рода *Viola* L.;

- результаты макроскопического и микроскопического исследования указанных видов рода *Viola* L. флоры Сибири;
- рекомендации по использованию ресурсосберегающей технологии при переработке сырья фиалки с последующим получением экстракта густого, водорастворимых полисахаридов и пектиновых веществ;
- результаты исследований по разработке состава сбора «Бронхолисан», критериев подлинности и установлению норм содержания основных групп биологически активных веществ;
- результаты исследований по разработке нормативной документации на перспективные виды рода *Viola*.

**Личный вклад автора.** Автору принадлежит ведущая роль в формировании направления исследования, постановке цели и конкретных задач, изыскании объектов для изучения и активное участие на всех этапах экспериментальных исследований, в интерпретации и обобщении полученных результатов. Основная часть диссертационных исследований была выполнена лично автором.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – «фармацевтическая химия, фармакогнозия». Результаты проведенных исследований соответствуют пунктам 2, 3, 6 паспорта специальности.

**Связь задач исследований с проблемным планом.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ кафедры фармации ГБОУ ДПО Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ по теме государственной рег. № 01201168763 «Проблемы качественной фармацевтической помощи».

**Апробация работы.** Основные результаты исследований были доложены и обсуждены на региональных, всероссийских, международных научных и научно-практических конференциях: – XI и XIII научно-практических конференциях «Актуальные проблемы клинической медицины» (Иркутск, 2001, 2008); – межрегиональных научно-практических конференциях молодых ученых «Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины» (Иркутск, 2003, 2006); – XII–XX Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2005–2013); – межрегиональных научных конференциях «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции» (Пятигорск, 2006–2012); – III Всероссийской научной конференции «Новые достижения в химической технологии растительного сырья» (Барнаул, 2007); – VI Всероссийском научном семинаре «Химия и медицина» (Уфа, 2007); – III и VI



International scientific conference «Traditional Medicine: A current situation and perspectives of Development» (Ulan-Ude, 2008, 2013); – VI Всероссийской научной конференции (с международным участием) «Рентгеноспектральный анализ» (Краснодар, 2008); – Proceeding of the 2nd International Conference on «X-Ray Analysis» (Ulaanbaatar, Mongolia, 2009); – the 4th International Symposium «Traditional Medicine and Innovative Drugs» (Erdos, P.R. China, 2009); – научно-практической конференции «Развитие традиционной медицины в России: опыт, научные исследования» (Улан-Удэ, 2010); – VIII Всероссийской конференции (с международ. участием) «Химия и медицина» (Уфа, 2010); – Московской международной гомеопатической конференции «Развитие гомеопатического метода в современной медицине» (Москва, 2011, 2012, 2013); – the 2nd international Conference «Soil and biota Diversity of Northern and Central Asia» (Ulan-Ude, Russia, 2011); – VIII mezinárodní vědecko – praktická conference «Dny vědy – 2012». Biologické vědy: (Praha, 2012); – 2-й Международной научно-практической конференции «Кластерные подходы фармацевтического союза» (Белгород, 2012); – Международной научно-практической конференции «Современное общество, образование и наука» (Тамбов, 2012, 2013); – Всероссийском совещании «Современные проблемы геохимии» (Иркутск, 2012); – 1-й Международной научной конференции «Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы» (Новосибирск, 2013); – I Всероссийской научной Интернет-конференции с международ. участием «Химическая наука: современные достижения и историческая перспектива» (Казань, 2013); – IV Всероссийской конференции с международным участием «Развитие традиционной медицины в России» (Улан-Удэ, 2014); – Topical issues of acupuncture and traditional medicine in the field of prevention, treatment and medical rehabilitation of patients with different diseases: abstracts book of the First International Baikal Symposium «Traditional medicine and rehabilitation» (Irkutsk, 2015); – IV научно-практической конференции с международным участием «Молодые ученые и фармацевтика XXI века» – (М., 2016); – Topical issues of acupuncture, homeopathy and phytotherapy in the field of prevention, treatment and medical rehabilitation. Second International Baikal Symposium «Traditional medicine and rehabilitation» (Ulan-Ude, 2016).

**Публикации.** Основное содержание работы отражено в 79 научных работах, в том числе в 21 статье – периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, 1 монографии, 2 патентах РФ на изобретения.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 401 странице машинописного текста и состоит из: введения, обзора литературы, собственных исследований, выводов, списка использованной литературы,

включающего 372 источника, из которых 141 – на иностранных языках, и приложений. Работа иллюстрирована 98 таблицами и 77 рисунками.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, представлены научная новизна и практическая значимость работы.

В первой главе приведены сведения о растениях рода *Viola* по характеристике, распространению, степени изученности химического состава, фармакологических свойств, применению в научной и народной медицине. Во второй главе изложены методы исследования растительных объектов, использованные в работе. Третья глава посвящена исследованию состава основных групп биологически активных веществ: фенольных соединений (флавоноидов, фенольных кислот, кумаринов), полисахаридных комплексов, аминокислот, макро- и микроэлементного состава. В четвертой главе представлены результаты ресурсоведческих работ, морфологическая и микродиагностическая характеристика наиболее перспективных видов. В пятой главе приведены результаты исследований по разработке нормативной документации. Шестая глава посвящена получению экстракта густого *Viola uniflora*, сбора «Бронхолисан» и их стандартизации. В приложении представлены документы, подтверждающие внедрение результатов диссертационной работы (акты внедрения, патенты, проекты фармакопейных статей, свидетельства о государственной регистрации), ИК-, ЯМР-, Масс- спектры некоторых соединений, товароведческие показатели сырья фиалки одноцветковой, экстракта густого фиалки одноцветковой, результаты фармакологических исследований субстанций, полученных на основе сырья фиалки.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили свежесобранные и высушенные образцы сырья: фиалки одноцветковой – *Viola uniflora* L., фиалки Лангсдорфа – *Viola langsdorffii* Fischer ex Ging., фиалки сахалинской – *Viola sacchalinensis* Boiss., фиалки Патрэна – *Viola patrinii* Ging., фиалки двухцветковой – *Viola biflora* L., фиалки песчаной – *Viola arenaria* DC., фиалки Селькирка – *Viola selkirkii* Pursh ex Goldie, фиалки короткошпорцевой – *Viola brachyceras* Turcz., заготовленные в период вегетации (май–июль) в Иркутской и Сахалинской областях, Красноярском и Забайкальском краях, республике Бурятия. Сырье исследуемых видов заготавливали в 2002–2016 гг., высушивали, упаковывали и хранили в соответствии с требованиями действующей нормативной документации (ГОСТ 6077-80, ГФ XI и ГФ XIII).

Исследование макроскопических и микроскопических признаков образцов видов рода фиалка проводили в соответствии со статьями ГФ XI и ГФ XIII «Лекарственное растительное сырье, фармацевтические субстанции растительного происхождения, лекарственные растительные препараты и методы их анализа», «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Установление морфологических признаков, исследуемых видов рода *Viola* и сбора проводили визуально и с использованием лупы (5×, 10×), стереомикроскопа МБС-10, обращая внимание на органолептические показатели. Для изучения микропрепаратов использовали микроскоп фирмы «Carl Zeiss». Микрофотографии выполнены на микроскопе ЛОМО МИКМЕД – 1» с бинокляром АУ-12 1,5х (окуляр ×10 и объективы: ×3,7, ×10, ×20, ×40) с помощью цифровой фотокамеры «Canon PowerShot A85». Обработка снимков микропрепаратов проводилась с применением компьютерной программы «Adobe Photoshop».

Обнаружение, выделение, идентификацию биологически активных веществ (флавоноидов, фенольных кислот, кумаринов, дубильных веществ, полисахаридов и др.) в исследуемом сырье проводили с использованием качественных реакций, хроматографических, спектральных и других современных физико-химических методов анализа. Для хроматографических исследований, идентификации, количественного анализа использовали стандартные образцы и хроматографически чистые вещества производства фирм Merck, Sigma, Aldrich.

Спектральный анализ проведен на приборах СФ-46, «Lambda 35 UV/ VIS» PerkinElmer instruments (США), ИК-спектры записывали на спектрометре Vertex 70, ЯМР-спектры – на спектрометре BS – 567A (Tesla), Bruker – AM 500. Температуру плавления выделенных соединений устанавливали в блоке Кофлера.

Состав фенольных соединений исследовали с использованием методов хроматографии в тонком слое сорбента, бумажной и колоночной хроматографии, качественных реакций и метода ВЭЖХ. ВЭЖХ-анализ БАВ проводили на хроматографе «GILSON» (Франция) с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы «Мультихром для Windows». Для анализа фенольных соединений использована металлическая колонка размером 4,6х250 мм PLATINUM EPS C18 100 А с величиной частиц 5 микрон. Подвижной фазой служила система: метанол – вода – фосфорная кислота концентрированная, в соотношении 400:600:5. Детектирование осуществлялось с помощью УФ-детектора «GILSON» UV/VIS модель 151, при длине волны 254 нм.

Изучение состава полисахаридных комплексов проводилось после кислотного гидролиза методом ВЭЖХ на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «GILSON». В качестве неподвижной фазы использована

металлическая колонка размером 4,6×250 мм с сорбентом Ультрасил-NH<sub>2</sub>, подвижной фазой служила система: ацетонитрил-вода (85:15). Детектирование осуществляли с помощью УФ-детектора при длине волны 190 нм. Исследования проведены в испытательной лаборатории ГБУЗ Центра лекарственного обеспечения (Москва).

Липофильные фракции исследовали методом ГЖХ на газожидкостном хроматографе Hewlett-Packard 5890 с масс-селективным детектором MSD HP 5973 A и системой обработки данных «HP ChemStation», содержащей библиотеку на 200 тысяч соединений. Для анализа использовали кварцевую капиллярную колонку HP – 5 MS30 м × 0,25 мм × 0,33 мкм с привитой фазой 5 % фенилметилсиликона и 95 % диметилполисилоксана, толщина привитой фазы 0,33 мкм, при программировании температуры от 100 °С до 300 °С со скоростью нагрева 10 °С в мин, температура инжектора 280 °С, температура интерфейса 290 °С, температура масс-селективного детектора 250 °С, скорость газа носителя (гелия) 1 мл/мин, объем вводимой пробы, взятой с помощью автосамплера, составлял 1 мкл. Сброс отсутствует. Давление в инжекторе программируется с 8,8 psi до 22,0 psi. Масс-спектры получали при ионизации электронным ударом 70 eV, сканировании спектров от 38 до 450 а.е.м. со скоростью 2 спектра в секунду.

Идентификацию компонентов проводили по полным масс-спектрам с использованием РВМ (Probability Based Matching), входящей в комплект системы, а также интерпретации масс-спектров на основании спектро-структурных корреляций и построения селективных ионных масс-хроматограмм по отдельным характеристическим ионам. Количественное определение осуществляли по площади пиков на масс-хроматограмме и их отношению к полному ионному току (TIC).

Состав эфирного масла сбора определяли на хромато-масс-спектрометре фирмы Agilent Technologies, состоящего из газового хроматографа –7890 и масс-селективного детектора 5973N с квадрупольным анализатором. Программное обеспечение – ChemStation E 02.00.

Аминокислотный состав исследовали с использованием аминокислотного анализатора «Amino Acid Analyzer 339» (Чехия). Анализ проводили в Li<sup>+</sup> цикле.

Изучение качественного состава свободных органических кислот проводили методом ВЭЖХ. В качестве неподвижной фазы использовали металлическую колонку ALTECH OA-1000 Organic Acids размером 6.5x300 мм. Подвижной фазой служил 0,005 М раствор серной кислоты.

Макро- и микроэлементный состав определяли методом рентгенофлуоресцентного анализа (РФА), на рентгеновском спектрометре S4 Pioneer (Bruker, AXS) Германия.

Содержание суммы флавоноидов в исследуемых объектах устанавливали методом дифференциальной спектрофотометрии (в пересчете на рутин) с раствором алюминия хлорида при длине волны  $410\pm 2$  нм. Определение фенольных кислот (в пересчете на галловую кислоту) проводили с использованием прямой спектрофотометрии при длине волны  $270\pm 2$  нм. Оценку сырья по содержанию полисахаридов осуществляли гравиметрическим и спектрофотометрическим методами.

Содержание свободных органических кислот устанавливали методом титриметрии.

Статистическую обработку полученных результатов исследований проводили с использованием прикладных программ STATISTICA / w6.1 («StatSoft, Inc.» США) с применением критерия «t» Стьюдента и Манна–Уитни в электронных таблицах Microsoft Excel.

Изучение фармакологических и токсикологических свойств исследуемых растительных объектов проводили на кафедре нормальной физиологии Иркутского государственного медицинского университета и на базе Ангарского филиала ФБГУ «Восточносибирского научного центра экологии человека» СО РАМН НИИ медицины труда и экологии человека.

### **Исследование химического состава видов рода Viola**

Общепринятыми методами в восьми исследуемых видах рода Viola установлено наличие флавоноидов, фенольных кислот, кумаринов, полисахаридов, аминокислот и других природных соединений, обуславливающих терапевтические свойства.

Проведенными исследованиями с использованием качественных реакций, БХ, ТСХ, ВЭЖХ идентифицировано 28 фенольных соединений (18 флавоноидов, 7 оксикоричных кислот, 3 кумарина), из них 24 соединения для данного видового состава описаны впервые. Кроме того, впервые установлено присутствие сахаров в свободном состоянии, в виде полисахаридов и гликозидов.

### **Выделение и установление структуры фенольных соединений физико-химическими методами**

Выделение, изучение химического состава и структуры БАВ (фенольных соединений, полисахаридных комплексов и липофильных фракций) проводилось в соответствии с представленной схемой (рисунок 1) и с существующими методиками.

Для выделения фенольных соединений воздушно-сухое сырье фиалки исчерпывающе извлекали спиртом этиловым 70 %-м. Объединенные спиртовые извлечения концентрировали в мягких условиях под вакуумом при температуре

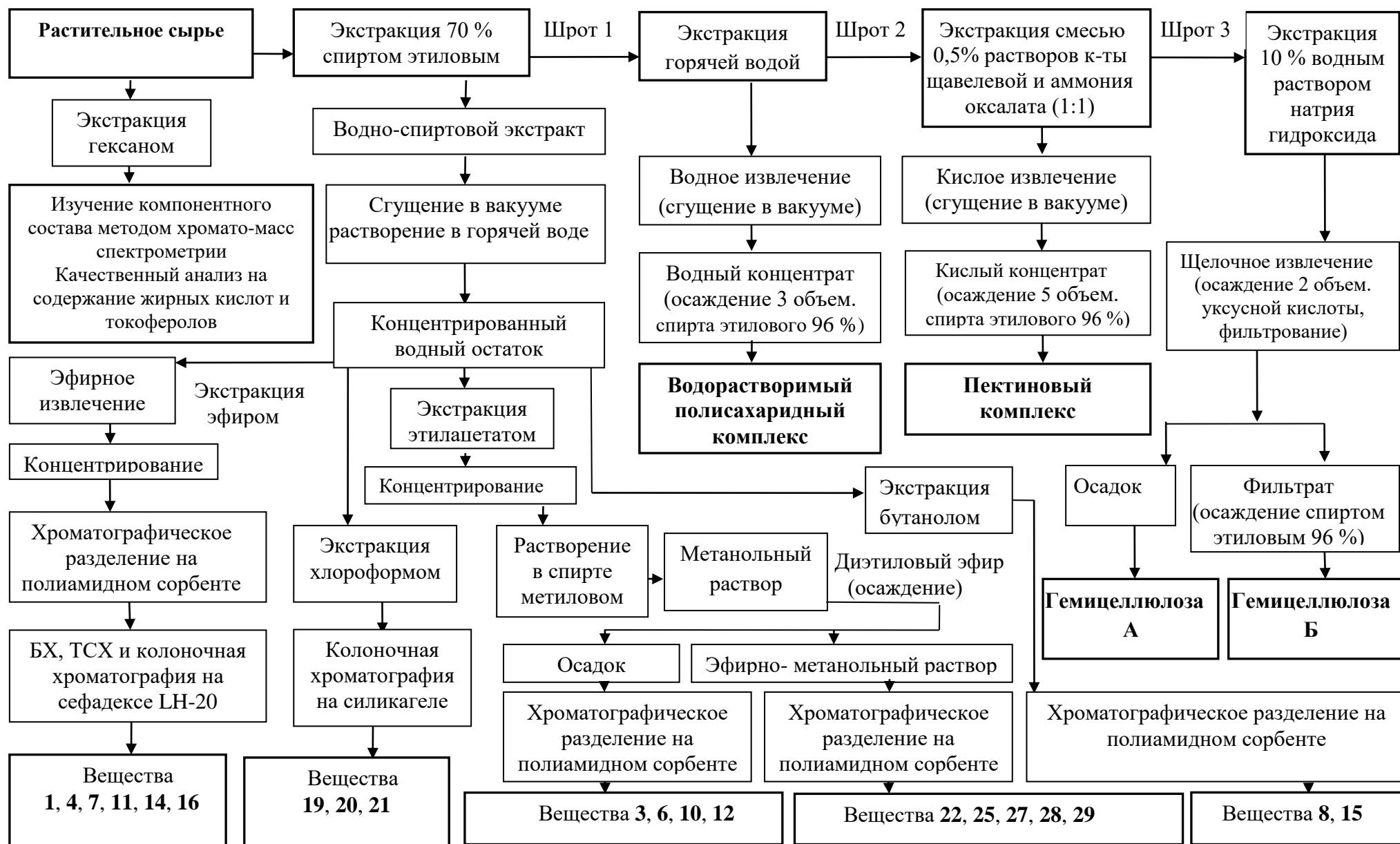


Рисунок 1. Схема выделения и изучения химического состава БАВ видов рода фиалка

от 45 до 55 °С. Очищенный органическим растворителем концентрат подвергали селективной экстракции диэтиловым эфиром, хлороформом, этилацетатом и бутанолом. Методами колоночной хроматографии, препаративной БХ и ТСХ выделены фенольные соединения: флавоноиды, кумарины и фенольные кислоты.

**Флавоноидные агликоны.** Из полученных после отгонки растворителя эфирных фракций методом колоночной хроматографией на полиамидном сорбенте, препаративной БХ и ТСХ выделены соединения: **1, 4, 7, 11, 14, 16**. Цианидиновой реакцией по Брианту эти соединения отнесены к агликонам. На основании полученных результатов спектрального анализа (УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии), физико-химических свойств в сравнении с достоверными образцами идентифицированы: **1** – (5,7,4'-триоксифлавонон) апигенин, **4** – (5,7,3',4' - тетраоксифлавонон) лютеолин, **7** – (3,5,7,3'4'-пентаоксифлавонон) кверцетин, **11** – (3,5,7,4'-тетраоксифлавонон) кемпферол, **14** – (5,7,4'-тригидроксифлавонон) нарингенин, **16** – (таксифолин) дигидрокверцетин.

**Флавоноидные гликозиды.** Выделенные соединения: **3, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 15** – по результатам качественных реакций и кислотного гидролиза отнесены к гликозидам. Анализ продуктов гидролиза показал, что большинство флавоноидных гликозидов сравнительно легко подвергалось гидролитическому расщеплению, и они были отнесены к О- гликозидам. Вещества **3, 5** при тех же условиях устойчивы к гидролизу и в результате отнесены к С-гликозидам. Изучение продуктов гидролиза, полученных ИК- и УФ-спектров, сравнение их с достоверными образцами и литературными источниками позволили идентифицировать вещества: **6** как (лютеолин-7-О-β-D глюкопиранозид) цинарозид, **8** – (кверцетин-3-О-рутинозид) рутин, **9** – (кверцетин-7-О-глюкозид) кверцимеритрин, **10** – (кверцетин-3-О-β-D галактопиранозид) гиперозид, **12** – (кемпферол-3-О-рамнозид) афзелин, **13** – (кемпферол-3-О-β-D-робинобиозид, 7-О-α-L- рамнопиранозид) робинин, **15** – (5, 3'-диокси-4'-метокси-7-о-β-D-глюкопиранозидо-О-α-L-рамнопиранозид флаванона) гесперидин. Соединения: **3** – (8-С-β-D-глюкопиранозид апигенина) витексин, **5** – (8-С-β-D-глюкопиранозид лютеолина) ориентин, отнесены к С- гликозидам.

**Фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты** определяли в этилацетатной фракции, идентифицировали их по хроматографической подвижности, флуоресценции зон адсорбции в УФ-свете, цветным качественным реакциям, УФ- и ИК спектроскопии, температуре плавления. Соединение **22** идентифицировано с (3,4,5 триоксибензойной кислотой) галловой кислотой, **24** – с (β-фенилакриловой кислотой) коричной кислотой, **25** – с (3,4 диоксикоричной кислотой) кофейной кислотой, **26** – с (5-О-кофеил-D-хинной) хлорогеновой кислотой, **27** – с (3-О-кофеил-D-хинной кислотой) неохлорогеновой кислотой, **28** – с (4-окси-3-метокси-

коричной кислотой) феруловой кислотой, **29** – с (2,3-дикофеилвинной кислотой) цикориевой кислотой.

**Кумарины.** Соединения **19**, **20**, **21** обнаруживали в хлороформной фракции с использованием ТСХ в системах этилацетат – бензол (1:2), хлороформ – бензол (1:1) на пластинах «Silufol UV – 254» и «Sorbfil». Детектирование проводили до и после обработки 10 %-м спиртовым раствором натрия гидроксида, высушивали, нагревали в течение 2 минут при 110 °С. В дальнейшем хроматограммы обрабатывали диазореактивом свежеприготовленным. Кумарины до обработки проявляющими реактивами в УФ свете давали голубую флуоресценцию, после обработки – коричневатого-красного цвета.

По результатам хроматографических исследований, УФ- и ИК-спектральным данным, отсутствию депрессии температуры плавления смешанной пробы со стандартным образцом идентифицированы вещества: **19** как (бензо- $\alpha$  пирон) кумарин, **20** – как (7-гидроксикумарин) умбеллиферон, **21** – (6-метокси-7-оксикумарин) – скополетин.

В целях подтверждения качественного и количественного состава фенольных соединений в исследуемых видах использован метод ВЭЖХ. Для исследования готовили спиртовые извлечения. В качестве растворов сравнения использовали стандартные образцы 0,05 %-х фенольных соединений. Идентификация разделяемых веществ проводилась путем сопоставления времени удерживания компонентов смеси со временами удерживания стандартных образцов. Количественную оценку идентифицированных веществ в исследуемом образце осуществляли по площади пика, используя метод внутренней нормализации.

В результате проведенных исследований с использованием БХ, ТСХ, ВЭЖХ и других методов физико-химического анализа идентифицировано 28 фенольных соединений: флавоны – апигенин, витексин, лютеолин, ориентин, цинарозид; флавонолы – кверцетин, рутин, кверцимеритрин, гиперозид, кемпферол, афзелин, робинин; флавононы – нарингенин, гесперидин; флавононолы – дигидрокверцетин; кумарины – умбеллиферон, кумарин, скополетин; дубильные вещества – катехин, эпикатехин; фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты – галловая; коричная, кофейная, хлорогеновая, неохлорогеновая, феруловая и цикориевая. Физико-химические свойства фенольных соединений, выделенных из видов рода *Viola L.* представлены в таблицах 1, 2.

Таблица 1

**Физико-химические свойства флавоидных соединений, выделенных из видов рода *Viola L.***

Название вещества, код	Брутто формула	Т. пл. °С	УФ – спектры	Источник получения
------------------------	----------------	-----------	--------------	--------------------



			$\lambda_{\max}$ , нм	
1	2	3	4	5
<b>1. Флавоны</b>				
Апигенин (5,7,4'-триоксифлавоны), <b>1</b>	$C_{15}H_{10}O_5$	342-345	EtOH 335, 270	<i>V. selkirkii</i> * <i>V. brachyceras</i>
Витексин (8-С-β-D-глюкопиранозидапигенина), <b>3</b>	$C_{21}H_{20}O_{10}$	264-265	EtOH 340, 270, 215	<i>V. langsdorffii</i> * <i>V. patrinii</i> * <i>V. arenaria</i> * <i>V. sacchalinensis</i> *
Лютеолин (5,7,3',4' -тетраоксифлавоны), <b>4</b>	$C_{15}H_{10}O_6$	328-331	MeOH 347, 295 пл., 268 пл., 255	<i>V. brachyceras</i> <i>V. selkirkii</i> *
Ориентин (8-С-β-D-глюкопиранозид лютеолина), <b>5</b>	$C_{21}H_{20}O_{11}$	264-266	EtOH 347, 271	<i>V. langsdorffii</i> *
Цинарозид (лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид), <b>6</b>	$C_{21}H_{20}O_{11}$	253-254	EtOH 350, 268 пл., 256	<i>V. uniflora</i> * <i>V. selkirkii</i> * <i>V. langsdorffii</i> * <i>V. patrinii</i> * <i>V. sacchalinensis</i> *
<b>2. Флавонолы</b>				
Кверцетин (3,5,7,3'4'-пентаоксифлавоны), <b>7</b>	$C_{15}H_{10}O_7$	309-312	EtOH 371, 266, 258	<i>V. uniflora</i> * <i>V. arenaria</i> * <i>V. sacchalinensis</i> *
Рутин (кверцетин-3-О-рутинозид), <b>8</b>	$C_{27}H_{30}O_{16}$	191-194	EtOH 362, 299 пл., 264 пл., 256	<i>V. uniflora</i> * <i>V. langsdorffii</i> * <i>V. sacchalinensis</i> * <i>V. selkirkii</i> * <i>V. brachyceras</i> * <i>V. arenaria</i> *
Кверцимеритрин (кверцетин-7-О-глюкозид), <b>9</b>	$C_{21}H_{20}O_{12}$	243-245	EtOH 369, 257	<i>V. biflora</i> *
Гиперозид (кверцетин-3-О-β-D-галактопиранозид), <b>10</b>	$C_{21}H_{20}O_{12}$	232-234	EtOH 364, 265 пл., 255	<i>V. biflora</i> *
Кемпферол (3,5,7,4'-тетраоксифлавоны), <b>11</b>	$C_{15}H_{10}O_6$	275-277	EtOH 369, 269	<i>V. arenaria</i> *
Афзелин (кемпферол-3-О-рамнозид), <b>12</b>	$C_{21}H_{20}O_{10}$	172-174	MeOH 342, 263	<i>V. langsdorffii</i> * <i>V. patrinii</i> * <i>V. biflora</i> *

				<i>V. sacchalinensis</i> *
Робинин (кемпферол-3-О-β-D-робинобиозид, 7-О-α-L-рамнопиранозид), <b>13</b>	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> O <sub>19</sub>	189-191	EtOH 350, 265	<i>V. langsdorffii</i> *
<b>3. Флаваноны</b>				
Нарингенин (5,7,4'-тригидроксифлаванон, <b>14</b> )	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	248-250	MeOH 326 пл., 288, 220 пл.	<i>V. brachyceras</i> <i>V. selkirkii</i> *
Гесперидин (5, 3'-диокси-4'-метокси-7-О-β-D-глюкопиранозидо-О-α-L-рамнопиранозид флаванона), <b>15</b>	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	256-260	EtOH 330, 286	<i>V. patrinii</i> *
<b>4. Флаванонолы</b>				
Дигидрокверцетин (таксифолин), <b>16</b>	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	233	EtOH 327, 295пл, 258	<i>V. selkirkii</i> *

Примечание: \* – вещества идентифицированы в исследуемых видах впервые

### Выделение полисахаридных комплексов и установление моносахаридного состава

Из сырья *V. uniflora*, *V. sacchalinensis*, *V. langsdorffii* выделены полисахаридные комплексы, установлено их содержание. Для исследования моносахаридного состава комплексы гидролизовали раствором кислоты серной (1 моль/л). В гидролизатах водорастворимых полисахаридов методом хроматографии идентифицированы: рамноза, ксилоза, глюкоза, фруктоза, галактоза, манноза и уруновые кислоты – галактуроновая и глюкуроновая. В составе гидролизатов пектиновых веществ обнаружено до 8 моносахаридов: рамноза, ксилоза, глюкоза, арабиноза, фруктоза, галактоза, манноза и галактуроновая кислота. В гидролизатах гемицеллюлозы А и Б преобладали в основном ксилоза и рамноза.

Для детального исследования состава полисахаридных комплексов после их гидролиза применен метод ВЭЖХ (рисунок 2). В результате установлено, что в составе комплекса водорастворимых полисахаридов *V. uniflora* преобладают глюкоза 13,53 % – манноза 14,57 %. В гидролизате ВРПС *V. sacchalinensis* содержание фруктозы составляет 16,12 %. В пектиновом комплексе *V. sacchalinensis* преобладает рамноза – 29,42 %, в этом же комплексе *V. uniflora* содержание рамнозы составляет 53,01 %.

**Физико-химические свойства фенольных кислот, выделенных из растений рода *Viola* L.**

Код в-ва	Название соединения	Формула	Т. пл. °С	Окраска зон адсорбции в УФ-свете		УФ-спектры $\lambda_{max}$ , нм	Значение Rf	Источник получения
				до проявления	пары аммиака			
22	Галловая (3,4,5 триоксibenзойная)	$C_7H_6O_5$	249-252	желто-коричневая	фиолетово-красная	272, 210	0,64 Е; 0,36 М	обнаружена во всех изучаемых видах
24	Коричная ( $\beta$ -фенилакриловая)	$C_9H_8O_2$	133-134	серая/ св. голубая	св.- голубая	274, 221	0,49 Н	<i>V. selkirkii</i> , <i>V. brachyceras</i>
25	Кофейная (3,4 диоксикоричная)	$C_9H_8O_4$	194-196	светло-голубая	-	325, 299(пл.), 234	0,38 Г; 0,83 Д; 0,73 Е	обнаружена во всех изучаемых видах
26	Хлорогеновая (5-О-кофеил-Д-хинная)	$C_{16}H_{18}O_9$	202-205	голубая	зеленовато-голубая	326, 300(пл.), 247	0,65 Д; 0,49 Е; 0,68 З	<i>V. uniflora</i> , <i>V. biflora</i> , <i>V. patrinii</i> , <i>V. brachyceras</i> , <i>V. selkirkii</i>
27	Неохлорогеновая (3-О-кофеил-Д-хинная)	$C_{16}H_{18}O_9$	аморфное вещество	голубая	голубая	329, 298, 246	0,66 Б; 0,42 Е; 0,76 З	<i>V. uniflora</i> , <i>V. biflora</i> , <i>V. brachyceras</i> , <i>V. patrinii</i> , <i>V. arenaria</i> , <i>V. selkirkii</i> , <i>V. sachalinensis</i>
28	Феруловая (4-окси-3-метокси-коричная)	$C_{10}H_{10}O_4$	168-170	светло-фиолетовая	фиолетовая	320, 234	0,88 Д; 0,56 Е; 0,35 З	<i>V. uniflora</i> , <i>V. patrinii</i> , <i>V. brachyceras</i>
29	Цикориевая (2,3-дикофеилвинная)	$C_{22}H_{18}O_{12}$	аморфное вещество	темная	-	330, 280	0,31 Е	обнаружена во всех изучаемых видах

\***Примечание.** Использованные системы растворителей для хроматографии: Б – н- бутанол – кислота уксусная кислота – вода (4:1:5) БХ; Г – 15 %-й раствор кислоты уксусной БХ; Д – н- бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2) БХ; Е – хлороформ – спирт – вода (26:16:3) ТСХ «Silufol UV – 254»; «Sorbfil», РФ; З – 2 %-й раствор кислоты уксусной БХ; М – хлороформ – этилацетат – кислота муравьиная (5:4:1) – ТСХ «Silufol»; Н – хлороформ – этилацетат (20:1) ТСХ «Silufol»

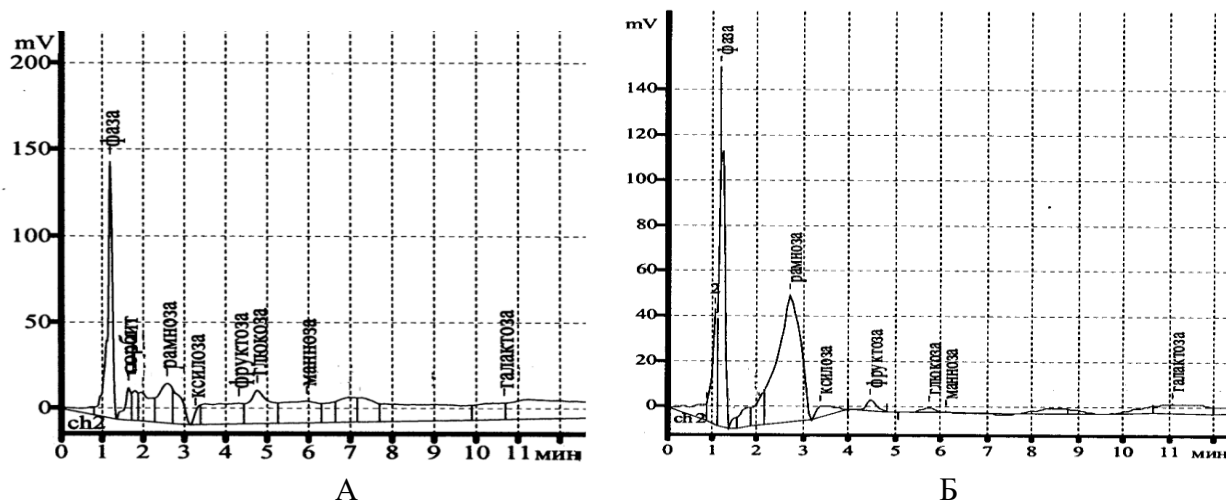


Рисунок 2. ВЭЖХ-хроматограммы гидролизатов *V. Uniflora*:  
 А – водорастворимые полисахариды; Б – пектиновые вещества

ВЭЖХ-анализом гидролизатов гемицеллюлозы А и Б установлено, что преобладающим моносахаридом является ксилоза, ее содержание в комплексах ГЦ А, Б составляет от 21,52 % в *V. sacchalinensis* и до 24,98 % – в *V. uniflora*.

Методом титриметрии установлено содержание функциональных групп пектиновых веществ. Содержание свободных карбоксильных групп в пектиновых комплексах варьирует от 5,31 до 7,83 %, метоксилированных групп – от 1,45 до 4,34 %. Высокое содержание пектиновых веществ и степень метоксилированности карбоксильных групп *V. uniflora* позволяет рекомендовать ее в качестве перспективного источника получения лекарственных препаратов для лечения заболеваний ЖКТ.

В составе углеводных комплексов обнаружены уроновые кислоты (галактуроновая и глюкуроновая). Наибольшее их содержание найдено в пектиновом комплексе *V. sacchalinensis* 68,73 % и *V. langsdorffii* 79,78 %.

В результате изучения аминокислотного состава идентифицировано 22 аминокислоты, из них 6 незаменимые\*: α-аминоадипиновая, α-аминомасляная, γ-аминомасляная, аргинин, аспарагиновая, валин\*, гистидин, глицин, глутамин, глутаминовая, цистеиновая, изолейцин\*, лейцин\*, лизин\*, орнитин, пролин, серин, тирозин, треонин\*, фенилаланин\*, фосфоэтанолламин и этаноламин. Общее содержание кислот варьирует от 0,74 мг/г до 5,51 мг/г. Наибольшее содержание аминокислот обнаружено в траве *V. sacchalinensis*. Преобладающее количество глицина (до 2,75 мг/г) обнаружено в надземной части *V. sacchalinensis*, из незаменимых аминокислот – валин – 0,37 мг/г в этом же виде.

При определении состава свободных органических кислот образцов в сырье исследуемых видов рода *Viola* обнаружены: щавелевая, лимонная и янтарная кислоты. Преобладает в смеси щавелевая кислота, ее содержание в сырье *V. langsdorffii* составляет 42,28 %. Общая сумма свободных органических кислот варьирует от  $1,31 \pm 0,05$  до  $2,59 \pm 0,07$  %.

Липидный комплекс фиалки получали путем исчерпывающей экстракции растительного сырья гексаном и проводили качественный, количественный анализ жирорастворимых веществ, выделенных из растительного сырья, методом ГЖХ. В результате исследования липофильных фракций, полученных из надземных частей *V. uniflora*, *V. langsdorffii* и *V. sacchalinensis*, идентифицировано 24 соединения: а) высомолекулярные насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты, их производные и метиловые эфиры; б) одноненасыщенный дитерпеновый спирт фитол; в)  $\beta$ -ситостерин; г) жирорастворимый витамин –  $\gamma$ -токоферол; д) производное бензойной кислоты. Преобладают в смеси: *V. langsdorffii* – линолевая (9, 12-октадекадиеновая) кислота, содержание ее составляет до 44,15 % и *V. sacchalinensis* – п-гексадекановая кислота (производное пальмитиновой кислоты) до 23,26 %.

Элементный состав изучаемых видов рода фиалка устанавливали методом рентгенофлуоресцентного анализа (РФА). В результате в траве, исследуемых видов рода фиалка впервые определен 21 макро- и микроэлемент и установлено их содержание. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о максимальном накоплении во всех исследуемых видах: калия – от 3,40 до 5,37 %; кальция – от 0,36 до 0,75 %; фосфора – от 0,27 до 0,48 %; и магния – от 0,27 до 0,52 %. Эти элементы относятся к группе эссенциальных и очень важны для нормальной жизнедеятельности организма.

Содержание тяжелых металлов соответствует требованиям ОФС.1.2.2.2.0012.15 «Тяжелые металлы».

Таким образом, установлено, что исследуемые виды рода фиалка содержат в своем составе различные группы природных соединений: флавоноиды, полисахариды, аминокислоты и другие соединения, представляющие интерес для создания новых лекарственных средств растительного происхождения и использования их в терапии заболеваний органов дыхания воспалительного характера.

### **Динамика накопления основных БАВ в надземной части видов рода *Viola***

Экспериментально доказано, что на накопление основных групп БАВ исследуемых видов влияют различные факторы: фаза вегетации, места распространения и другие условия внешней среды. Наибольшее содержание

суммы флавоноидов и водорастворимых полисахаридов накапливается в период цветения (таблица 3).

Таблица 3

**Результаты исследования динамики накопления суммы флавоноидов и водорастворимых полисахаридов надземной части изучаемых видов рода *Viola***

Фазы вегетации	<i>V. uniflora</i>		<i>V. sachalinensis</i>		<i>V. langsdorffii</i>	
	Содержание					
	Суммы флавоно- идов, %	Суммы ВРПС, %	Суммы флавоно- идов, %	Суммы ВРПС, %	Суммы флавоно- идов, %	Суммы ВРПС, %
Начало вегетации	1,23±0,07	8,15±0,16	1,04±0,05	5,03±0,19	1,39±0,05	6,12±0,16
Бутонизация	1,67±0,05	11,24±0,12	1,45±0,03	7,09±0,11	1,74±0,07	7,66±0,14
Цветение	1,88±0,05	12,66±0,39	1,78±0,06	9,31±0,15	1,93±0,05	9,84±0,23
Окончание цветения	1,81±0,06	10,38±0,15	1,62±0,04	7,08±0,20	1,79±0,04	7,59±0,17
Плодоноше- ние	1,46±0,05	7,12±0,11	1,25±0,07	4,24±0,70	1,39±0,08	4,72±0,15

Оказывают влияние на динамику накопления флавоноидных соединений факторы внешней среды: район распространения видов, наблюдаются также незначительные колебания содержания БАВ в зависимости от года вегетации (таблица 4).

Таблица 4

**Содержание флавоноидов во время цветения в надземной части *V. uniflora*, *V. sachalinensis* и *V. langsdorffii* в зависимости от района произрастания и года вегетации, %**

Место заготовки	Год вегетации			
	2011	2012	2013	2014
<i>V. uniflora</i>				
Иркутский сельский район	1,81±0,06	1,74±0,04	1,82±0,06	1,88±0,05
Иркутская область, окрест. г. Ангарска	1,76±0,04	1,71±0,05	1,84±0,04	1,79±0,08
Иркутская область, окрест. пос. Савватеевка, Ангарский район	1,78±0,04	1,67±0,03	1,75±0,07	1,85±0,06
Иркутская область, Тулунский район, урочище Гарь	1,85±0,06	1,80±0,04	1,73±0,06	1,77±0,04
Иркутская область, окрест. пос. Слюдянка	1,88±0,05	1,75±0,06	1,84±0,07	1,74±0,05
Иркутская область, Качугский район, окрест. пос. Манзурка	1,72±0,06	1,64±0,07	1,81±0,05	1,70±0,06

Республика Бурятия, Тункинский район, верховья р. Кынгарга	1,92±0,07	1,81±0,06	1,89±0,05	1,76±0,06
Красноярский край, Канский район, окрест. пос. Зеленый Луг	–	1,95±0,07	2,03±0,05	1,84±0,06
<i>V. sacchalinensis</i>				
Иркутская область, Иркутский сельский район	1,69±0,03	1,56±0,04	1,74±0,04	1,67±0,05
Иркутская область, окрест. пос. Мегет	1,58±0,05	1,73±0,05	1,62±0,04	1,75±0,04
Иркутская область, Ангарский район, окрест. пос. Савватеевка	1,76±0,04	1,68±0,05	1,79±0,05	1,70±0,05
Иркутская область, окрест. г. Усолье Сибирское	1,52±0,05	1,78±0,05	1,70±0,04	1,61±0,05
Иркутская область окрест. пос. Слюдянка	1,73±0,04	1,79±0,04	1,86±0,04	1,75±0,05
<i>V. langsdorffii</i>				
Окрест. пос. Восточный Сахалинской обл.	-	1,85±0,04	1,99±0,04	1,83±0,04
Окрест. г. Корсакова Сахалинской обл.	-	1,90±0,04	1,85±0,03	2,04±0,06
Окрест. г. Долинска Сахалинской обл.	-	1,82±0,03	1,94±0,06	1,85±0,04
Окрест. г. Поронайска Сахалинской обл.	-	1,96±0,04	1,86±0,03	1,94±0,05

Наибольшее содержание флавоноидов обнаружено в траве *V. uniflora*, заготовленной в Канском районе Красноярского края (до 2,03 %) и в Тункинском районе республики Бурятия – 1,92 %. Максимальное количество флавоноидов в надземной части *V. sacchalinensis* (до 1,86 %) установлено в образцах, собранных в Слюдянском районе Иркутской области и *V. langsdorffii*, распространенной в окрестностях г. Корсакова, – до 2,04 %.

### **Макроскопическое и микроскопическое исследование видов рода *Viola***

Впервые проведено макроскопическое и микроскопическое изучение травы *V. uniflora*, *V. sacchalinensis* и *V. langsdorffii* как перспективных источников лекарственных средств. Исследуемые виды являются многолетниками, фармакопейные – *V. tricolor* и *V. arvensis* – представлены одно-, двулетними растениями.

В результате проведенных исследований установлены макро- и микроскопические диагностически значимые признаки. При этом выявлены значительная общность признаков и характерные некоторые видовые отличия.

Стебли длиной 20–35 см с бороздчатой поверхностью, большей части опушенные сверху. Листовые пластинки от широкопочковидных, яйцевидных до овальных с сердцевидным или глубоко-сердцевидным основанием, с приостренной верхушкой, крупнозубчатым или городчатым краем. Цветки неправильные с двойным околоцветником от 12 до 30 мм в диаметре. Чашелистики от косо-овальной до ланцетно-яйцевидной формы. Лепестки венчика широко-обратнояйцевидные до продолговато-обратнояйцевидных, желтого цвета у *V. uniflora*; у *V. sacchalinensis* и *V. langsdorffii* венчик фиолетовый. Цвет листьев, стеблей от зеленого до серовато-зеленого. Запах слабый. Вкус водного извлечения сладковатый с ощущением слизистости.

Микроскопическим анализом исследуемых видов установлено сходство многих признаков. Общими микроскопическими признаками стебля, листа, чашечки, венчика являются трихомы, наличие сосочковидных волосков, друз оксалата кальция (рисунки 3, 4, 5, 6). Клетки эпидермиса нижней стороны листа более извилистые, чем верхней. Устьица располагаются с обеих сторон листовых пластинок (аномоцитный тип), окружены 3-4 околоустьичными клетками.

Головчатые волоски с многоклеточной головкой на многоклеточной ножке, располагаются по краю листа, в углублениях между зубцами и на концах зубцов (рисунок 7).

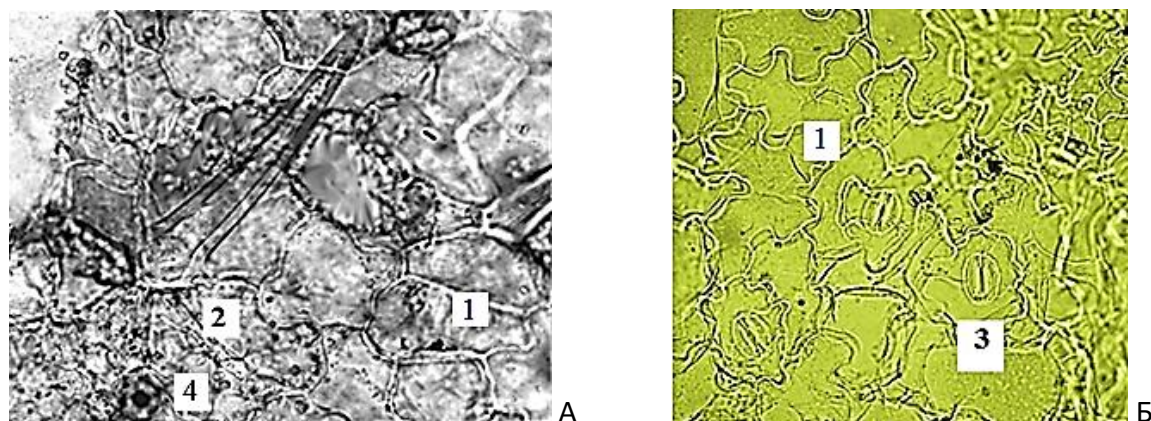


Рисунок 3. *V. uniflora* трава. Фрагмент листа: А – верхний эпидермис, Б – нижний эпидермис; 1 – клетки эпидермиса с извилистыми стенками, 2 – простой одноклеточный волосок, 3 – устьице, 4 – друзы (увел. ×240).



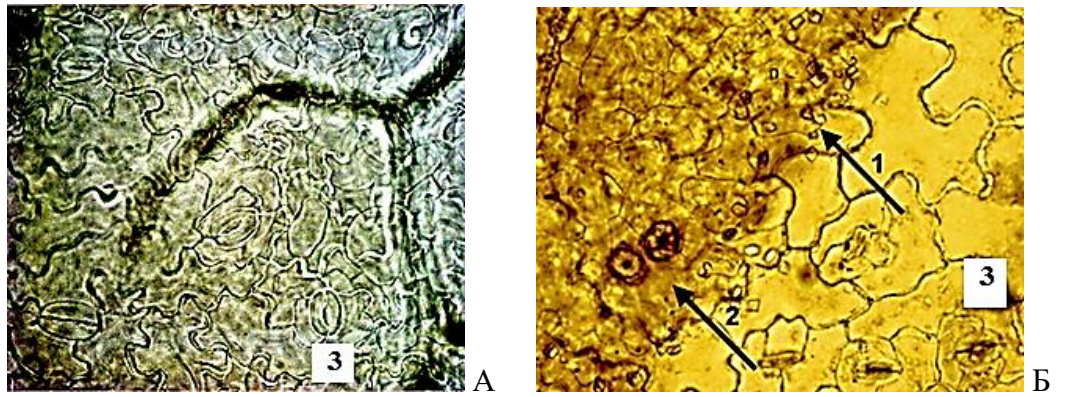


Рисунок 4. Фрагмент нижнего эпидермиса листа *V. langsdorffii* и *V. Sacchalinesis*: А – эпидермис листа *V. langsdorffii*, Б – эпидермис листа *V. sacchalinesis* (увел.  $\times 240$ ); 1 – одиночные кристаллы, 2 – друзы, 3 – устьице.

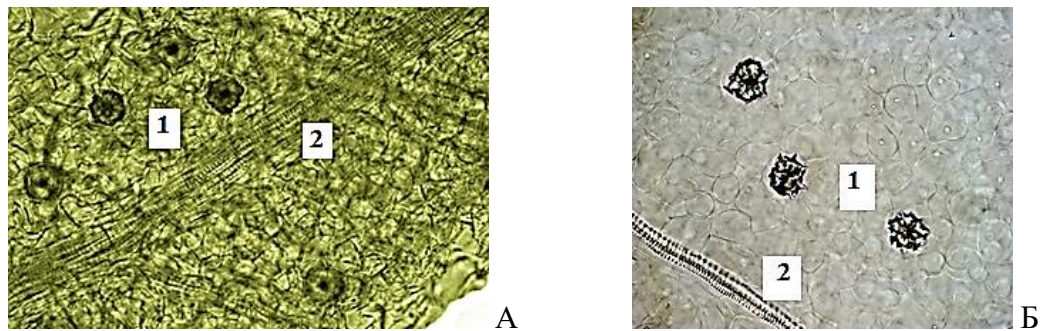


Рисунок 5. Фрагмент мезофилла листа *V. uniflora* и *V. langsdorffii*: А – мезофилл листа *V. uniflora*, Б – мезофилл листа *V. langsdorffii* (увел.  $\times 240$ ); 1 – друзы, 2 – сосуды.

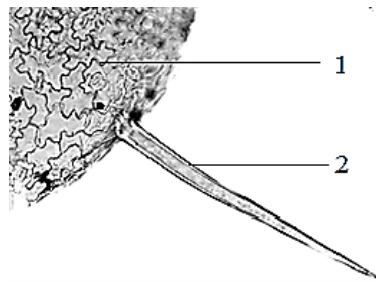


Рисунок 6. Фрагмент листовой пластинки *V. uniflora* (нижняя сторона): 1 – клетки эпидермиса с сильноизвилистыми стенками, 2 – простой одноклеточный волосок (увел.  $\times 100$ ).



Рисунок 7. Фрагменты края листа, исследуемых видов рода *Viola* (на

концах зубцов и в углублениях между зубцами располагаются головчатые многоклеточные волоски на многоклеточной ножке): А – головчатый многоклеточный волосок *V. uniflora*, Б – головчатый многоклеточный волосок *V. sacchalinensis*, В – головчатый многоклеточный волосок *V. langsdorffii* (увел. ×200).

В результате проведенных исследований выявлены диагностически значимые межвидовые отличия в строении головчатых волосков. У *V. uniflora* они имеют шаровидную форму, у *V. sacchalinensis* и *V. langsdorffii* – цилиндрическую с закругленной головкой. В мезофилле листа фиалки одноцветковой и фиалки сахалинской находятся крупные тупоконечные друзы оксалата кальция, для фиалки Лангсдорфа характерны крупные остроконечные друзы.

### **Разработка нормативной документации и стандартизация сырья *V. uniflora***

Для разработки нормативной документации (проекта ФС) на траву фиалки одноцветковой необходимы современные объективные методы качественного и количественного анализа. Установлено, что основными биологически активными соединениями фиалки являются флавоноиды и полисахариды, поэтому оценку качества сырья следует проводить по их содержанию. Для разработки методик количественного определения этих групп биологически активных соединений были подобраны оптимальные условия анализа: экстрагент, степень измельченности сырья, аналитическая длина волны, время и кратность экстракции.

Для качественного анализа флавоноидных соединений предложена цианидиновая реакция и тонкослойная хроматография на пластинках «Silufol UV 254». Подвижной фазой для разделения флавоноидов служила система растворителей: этилацетат – пиридин – кислота муравьиная (36:9:5). При детектировании должно обнаруживаться не менее двух зон адсорбции: зона с флуоресценцией ярко-желто цвета и зона с флуоресценцией желто-оранжевого цвета ориентировочно на уровне рутина. Допускается наличие 3 зон, в том числе желтой флуоресценции выше зоны рутина.

Определение содержания суммы флавоноидов предлагается проводить по разработанной нами методике с использованием дифференциальной спектрофотометрии, в основе которой реакция комплексообразования с алюминия хлоридом. В результате происходит батохромный сдвиг полосы поглощения флавоноидов от 330–350 до 390–430 нм. Полученные спиртоводные извлечения из травы фиалки при взаимодействии с 5 %-м раствором алюминия хлорида показали максимум поглощения при длине

волны 410 нм, что совпадало с максимумом поглощения СО рутина (Sigma, кат. № 2303) с алюминия хлоридом (рисунок 8). Таким образом, при количественной оценке БАВ в сырье в качестве стандарта был использован рутин. При подборе условий для максимального извлечения флавоноидов установлено, что наибольшее их количество экстрагируется спиртом этиловым 70 %-м при измельченности сырья 1 мм и соотношении сырье – экстрагент 1:25. Максимальное количество флавоноидных соединений извлекается из сырья в течение 60 мин. Время реакции комплексообразования с 5 %-м спиртовым раствором алюминия хлорида составляет 30 минут.

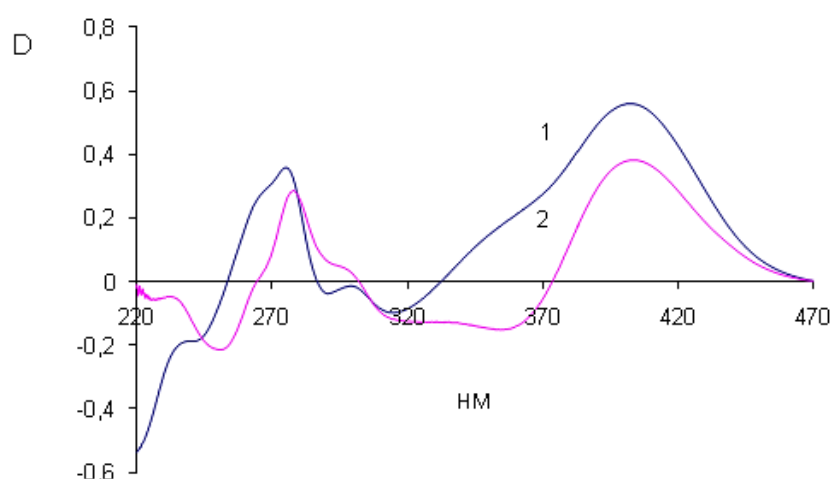


Рисунок 8. Дифференциальные спектры поглощения комплекса СО рутина (1), суммы флавоноидов *V. uniflora* (2) с 5 %-м спиртовым раствором алюминия хлорида

Стабильность комплекса сохранялась на протяжении 1,5 часов. Относительная ошибка определения результатов с достоверной вероятностью 95 % не превышала  $\pm 3,19$  %. Разработанная методика валидирована по параметрам: линейность ( $y=271,8 \cdot x+0,0156$ ,  $R=0,99971$ ), сходимость ( $RSD=2,68$  %), правильность (среднее значение 99,84 %). Разработанная методика была использована в количественном анализе суммы флавоноидов 6 партий сырья, заготовленных в разных районах Восточной Сибири.

Содержание флавоноидов в изучаемых видах варьировало от 1,52 до 2,04 %. Установлена норма содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1 %. Исследованиями по определению суммы флавоноидов при хранении в течение 3 лет не снижается ниже установленной нормы.

Для стандартизации сырья *V. uniflora* по содержанию полисахаридов разработана методика спектрофотометрического анализа, предусматривающая экстракцию полисахаридного комплекса из сырья, гидролиз выделенных углеводов и образования окрашенного комплекса

продуктов гидролиза (моносахаридов) с пикриновой кислотой в щелочной среде, с образованием пикраминовой кислоты. Измерение его оптической плотности проводилось при длине волны  $460 \pm 2$  нм (рисунок 9). Установлена норма содержания не менее 4 %.

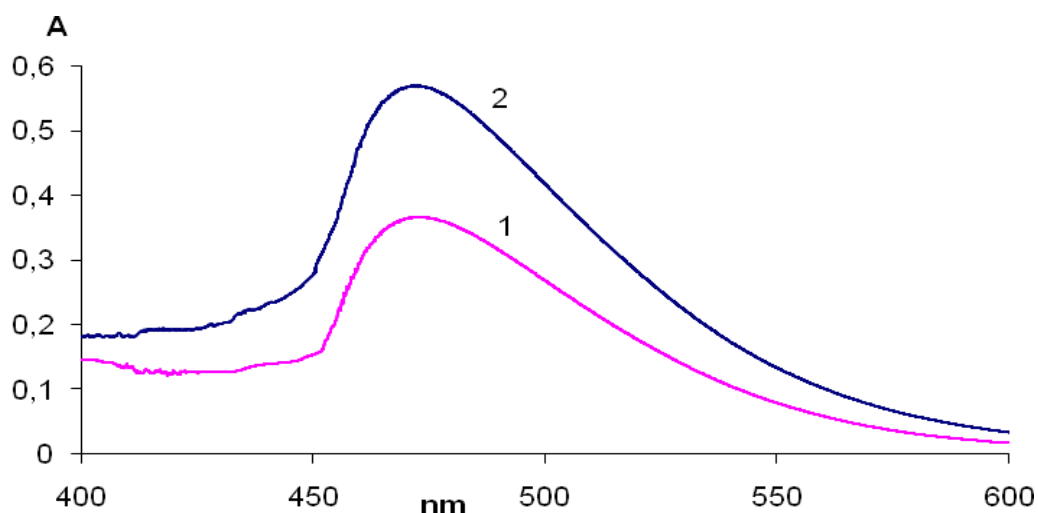


Рисунок 9. Спектры поглощения комплекса глюкозы (1) и комплекса моносахаридов из надземной части *V. uniflora* (2)

При определении суммы водорастворимых полисахаридов в сырье *V. uniflora* с использованием метода гравиметрии их содержание варьировало от 11,12 до 12,43 %.

#### Числовые показатели качества *V. uniflora* травы

По результатам исследований 5 партий сырья разработаны показатели качества для сырья «Фиалки одноцветковой трава» с учетом требований ГФ XIV изд. (таблица 5).

Таблица 5

#### Показатели и нормы качества, разработанные для проекта фармакопейной статьи «Фиалки одноцветковой трава»

Наименование показателя	Методы анализа	Проект ФС «Фиалки одноцветковой трава»
Внешние признаки	Визуальный	Цельное сырье, измельченное сырье
Микроскопия	По ГФ XIII	Разработана впервые

Качественные реакции	Цианидиновая реакция; с 2 %-м спиртовым раствором алюминия хлорида осаждение спиртом этиловым 96 %-м	Обнаружение флавоноидов  обнаружение полисахаридов
Хроматография	ТСХ «Silufol UV 254»; «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В- УФ	Обнаружение 5 зон
<b>Числовые показатели</b>		
Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин	Спектрофотометрия	Не менее 1 %
Содержание суммы моносахаридов после гидролиза в пересчёте на глюкозу, %	СФ	Не менее 4 %
Экстрактивных веществ, извлекаемых водой	ГФ XIV	Не менее 30 %
Экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым 70 %-м	ГФ XIV	Не менее 40 %
Влажность	ГФ XIV	Не более 12 %
Золы общей	ГФ XIV	Не более 13 %
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	ГФ XIV	Не более 3 %
Пожелтевших листьев и стеблей	ГФ XIV	Не более 7 %
Других частей растения (плоды, створки плодов, корней)	ГФ XIV	Не более 3 %
Органической примеси	ГФ XIV	Не более 3 %
Минеральной примеси	ГФ XIV	Не более 1 %
Микробиологическая чистота	ГФ XIV	Категория 4А
Остаточные количества пестицидов	ГФ XIV	Соответствие ОФС.1.5.3.00011.15
Содержание тяжелых	ГФ XIV	Соответствие

металлов		ОФС.1.5.3.0009.15
Радионуклиды	ГФ XIV	Соответствие ОФС.1.5.3.0001.15

Содержание суммы флавоноидов должно быть не менее 1 %, суммы моносахаридов после гидролиза в пересчёте на глюкозу – не менее 4 %, влажность – не более 12 %. Полученные результаты исследований использованы при разработке ТУ № RU.77.99.11.003.Е.008302.04.11., проекта ФС «Фиалки одноцветковой трава» и проекта ФС сбора «Бронхолисан».

### Разработка и получение экстракта густого из фиалки травы

В настоящее время известны и используются различные методы получения густых экстрактов из растительного сырья. Предварительные исследования показали перспективность использования метода реперколяции для получения экстракта густого фиалки одноцветковой. Экстракт получали с использованием указанного метода в батарее, состоящей из шести перколяторов по схеме завершённого цикла. Установлены оптимальные условия для экстракции: измельченность сырья фиалки травы 2–3 мм, экстрагент – спирт этиловый 70 %-й. После удаления сопутствующих веществ экстракт сгущали под вакуумом. Методом ВЭЖХ в составе густого экстракта идентифицированы флавоноиды: рутин, кверцетин, апигенин и другие соединения, а также галловая кислота. Стандартизацию густого экстракта рекомендуется проводить по содержанию флавоноидов в пересчете на рутин по разработанной методике, используемой для количественного анализа в траве фиалки. Содержание суммы флавоноидов в густом экстракте варьирует от 3,89 до 4,29 %. Предлагаемая норма содержания флавоноидов не менее 3,0 % (таблица 6).

Таблица 6

### Результаты стандартизации экстракта густого *V. uniflora*

Показатели	Методы испытаний	Нормы
1	2	3
Описание	Густая вязкая масса темно-бурого цвета	Соответствие проекту ФС
Качественные реакции	Цианидиновая реакция (Mg + HCl конц.)	Красное окрашивание (флавоноиды)
	с 2 %-м спиртовым раствором алюминия хлорида	желтое окрашивание (флавоноиды)
	С раствором железоммонийных	Грязно-зеленое окрашивание

	квасцов	(дубильные вещества)
	ТСХ	Рутин галловая кислота
Числовые показатели: Сумма флавоноидов в пересчете на рутин	Спектрофотометрия	Не менее 3,0 %
Потеря в массе при высушивании	ГФ XIV	Не более 25 %
Тяжелые металлы	ГФ XIV	Не более 0.01%
Микробиологическая чистота	ГФ XIV	Соответствие ОФС.1.2.4.0002.15, категория 4Б
Упаковка, маркировка и транспортирование	ГФ XIV	Соответствие ОФС.1.1.0019.15
Хранение	ГФ XIV	Соответствие ОФС.1.1.0011.15

### **Разработка состава сбора «Бронхолисан» и его стандартизация**

Анализ данных рецептуры официальной и народной медицины, используемой в лечении заболеваний бронхолегочной патологии, позволил разработать состав сбора «Бронхолисан». Оптимальный компонентный состав сбора обусловлен содержанием БАВ каждого вида ЛРС, а также по результатам фармакологического скрининга – активности вариантов сбора. В результате в состав сбора включены: фиалки одноцветковой трава, чабреца трава и солодки корни, взятые в весовом соотношении (35:30:35).

Исследование химического состава сбора показало наличие флавоноидов, фенольных кислот, полисахаридов, кумаринов, сапонинов, эфирного масла и аминокислот.

Состав БАВ сбора изучали с использованием комплекса физико-химических методов (ТСХ, БХ, ВЭЖХ, ГЖХ, хромато-масс-спектрометрии и УФ- спектроскопии) в сравнении со стандартными образцами.

Исследование фенольных соединений сбора «Бронхолисан» проводили методом ВЭЖХ. В результате идентифицированы флавоноиды: рутин 3,64 %, гесперидин 3,09 %, лютеолин-7-гликозид 1,43 %, гиперозид 6,58 %, витексин 1,29 %, кверцетин 6,85 %, кемпферол 0,73 %, катехин 20,01 %, танин 4,51 %; кислоты: галловая 9,48 %, кофейная 2,18 %, цикориевая 4,11 %, феруловая 1,19 %; кумарин 9,87 % и глицирризиновая кислота 3,04 % (рисунок 10). Всего в сборе идентифицировано 15 соединений, доминирующие компоненты среди флавоноидов – кверцетин, гиперозид, из фенолкарбоновых и оксикоричных кислот преобладала галловая кислота.

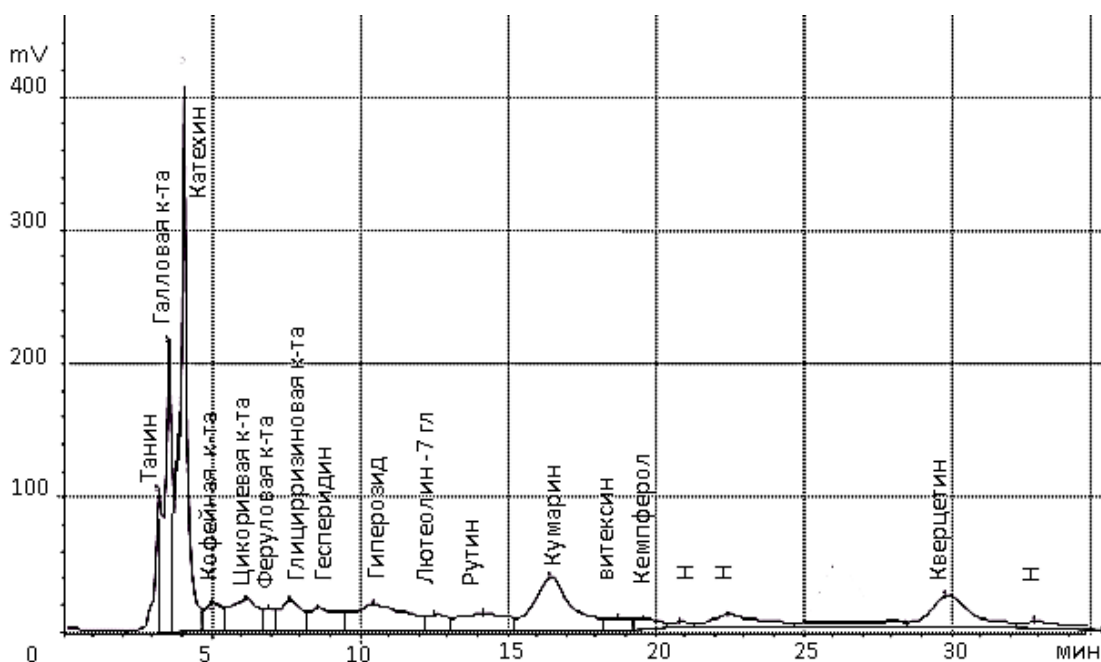


Рисунок 10. ВЭЖХ хроматограмма фенольных соединений сбора «Бронхолисан»

Методом газожидкостной хромото-масс-спектрометрии в эфирном масле идентифицировали 49 компонентов, преобладающими среди них являются: тимол 56,09 %, цимол 10,27 %,  $\gamma$ -терпинен 5,84 %, линалоол 5,28 %, 3-метил-5-изопропилфенол 5,1 %, кариофиллен 2,76 %, цинеол 1,8 %, борнеол 1,48 % (рисунок 11).

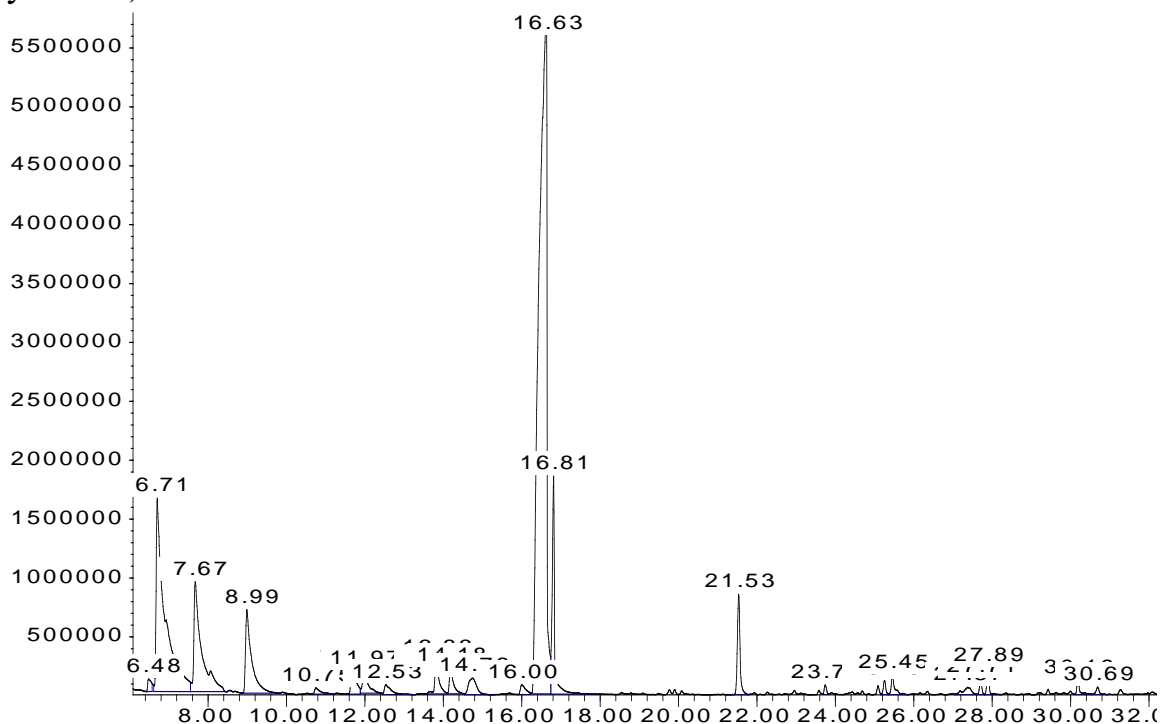


Рисунок 11. Хроматограмма эфирного масла сбора «Бронхолисан»



При исследовании аминокислотного состава сбора идентифицировано 24 аминокислоты, в том числе 6 незаменимых: валин, изолейцин, лейцин, треонин, фенилаланин и лизин.

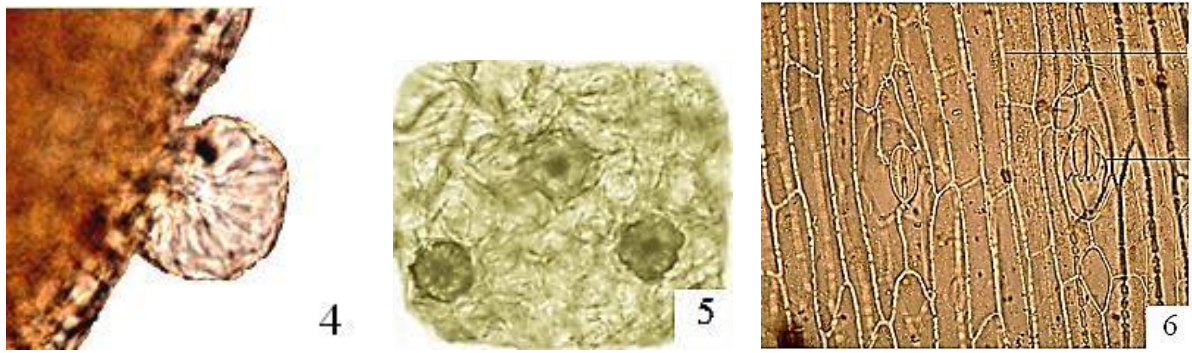
Состав липофильной фракции сбора исследовали методом ГЖХ. Идентифицировано 33 соединения различной химической природы, а именно: насыщенные и ненасыщенные высокомолекулярные жирные кислоты, их производные метиловых эфиров, стеринов, токоферолов и соединений терпеновой природы, встречающихся в составе эфиромасличной фракции. Преобладали в этой фракции жирные кислоты: линолевая кислота 26,75 %, линоленовая кислота 10,15 %, пальмитиновая кислота 14,26 %; витамин Е ( $\alpha$ -токоферол) 1,58 %; терпеновые соединения: бисаболен 3,25 %, кариофиллен 1,47 % и другие соединения.

С помощью рентенофлуоресцентного анализа в сборе определено 20 макро- и микроэлементов. В результате установлено высокое содержание калия 1,97 %, кальция 0,75 %, магния 0,31 %, фосфора 0,22 %, относящихся к группе жизненно важных элементов.

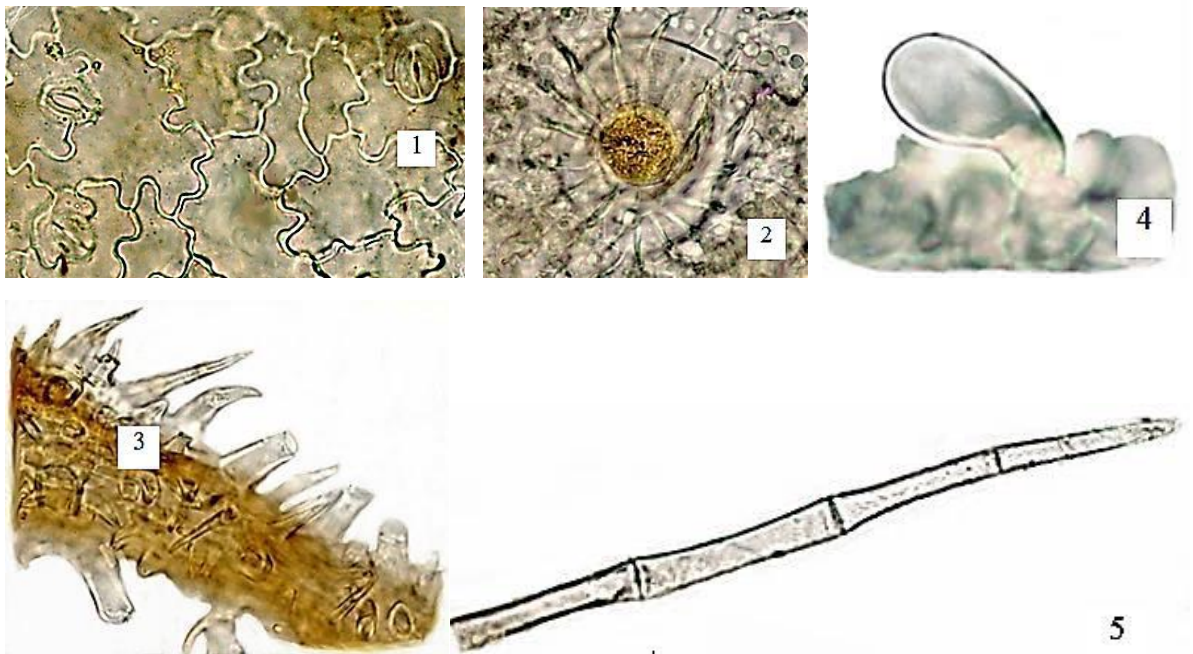
Разработаны качественные реакции для идентификации основных групп БАВ и установлены диагностически значимые морфолого-анатомические признаки видов растительного сырья, включенного в состав сбора.

Характерными микродиагностическими признаками в сборе для фиалки одноцветковой травы являются: фрагменты эпидермиса с устьицами аномоцитного типа, волоски простые одноклеточные и головчатые с многоклеточной головкой, друзы; для чабреца травы – фрагменты эпидермиса с устьицами диацитного типа, эфиромасличные желёзки, волоски простые одноклеточные, многоклеточные и головчатые. Для корня солодки свойственны: фрагменты волокон с кристаллоносной обкладкой – сосуды древесины – клетки паренхимы с крахмальными зёрнами и элементы пробки (рисунок 12).





I – фиалки одноцветковой трава: 1 – клетки эпидермиса с устьицами, 2 – край листа (простые одноклеточные волоски), 3 – простые одноклеточные волоски с бородавчатой поверхностью; 4 – головчатый волосок, 5 – мезофилл листа с друзами, 6 – фрагмент эпидермиса стебля с устьицами



II – чабреца трава: эпидермис. Фрагменты листа (клетки эпидермиса с извилистыми стенками): 1 – диацитный тип устьиц с 2 околоустьичными клетками, 2 – эфиромасличная железка, 3 – волоски простые одноклеточные, 4 – головчатый волосок, 5 – волосок простой многоклеточный с бородавчатой поверхностью



III – солодки корни: 1 – фрагмент пробки, 2 – фрагмент клеток паренхимы с крахмальными зёрнами, 3 – фрагменты волокон с кристаллоносной обкладкой, 4 – фрагменты сосудов древесины

Рисунок 12. Микродиагностические признаки сбора «Бронхолисан»: I – фиалки одноцветковой трава; II – чабреца трава; III – солодки корни

Стандартизацию сбора предлагается проводить по содержанию биологически активных веществ, обуславливающих фармакологическое действие: флавоноидов, полисахаридов и эфирного масла.

### Числовые показатели качества сбора «Бронхолисан»

По результатам проведенных исследований разработаны показатели и нормы содержания для сбора «Бронхолисан» (таблица 7).

Таблица 7

### Показатели и нормы содержания, разработанные для проекта фармакопейной статьи сбора «Бронхолисан»

№ п/п	Показатели	Содержание, %
1.	Качественные реакции: Флавоноиды (цианидиновая реакция) Полисахариды (осаждение спиртом этиловым 96 %-м)	Красное окрашивание  выпадает осадок
2.	Содержание суммы флавоноидов	Не менее 1,0 %
3.	Содержание моносахаридов после кислотного гидролиза полисахаридов	Не менее 2,5 %
4.	Содержание глицирризиновой кислоты	Не менее 1,3 %
5.	Содержание эфирного масла	Не менее 0,1 %
6.	Экстрактивных веществ, извлекаемых водой	Не менее 25 %
7.	Влажность	Не более 14 %

8.	Зола общей	Не более 11 %
9.	Зола, не растворимой в хлористоводородной кислоте	Не более 4 %
10.	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм	Не более 5 %
11.	Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм	Не более 5 %
12.	Органической примеси	Не более 2 %
13.	Минеральной примеси	Не более 1 %
14.	Микробиологическая чистота	Категория 4А
15.	Срок годности	2 года

Полученные экспериментальные данные товароведческого анализа (морфологического, микроскопического и фитохимического) использованы при разработке ТУ 9197-035-35639773-11 и проекта ФС на сбор «Бронхолисан», рекомендуемый для применения в комплексной терапии, в целях профилактики и лечения бронхолёгочных заболеваний. Для разработанного сбора установлен срок годности 2 года при условии хранения в упакованном виде в пакеты бумажные, вложенные в пачки картонные, в помещении при относительной влажности воздуха 50–60 % и влажности растительного сырья (согласно ГФ XIV) не более 14 %.

## ВЫВОДЫ

1. Обоснована перспективность исследования викарных видов рода *Viola*, широко распространенных в Восточной Сибири и на острове Сахалин. В целях дальнейшего их использования в качестве новых источников сырья впервые изучен состав фенольных соединений 8 видов: *V. uniflora* L., *V. sacchalinensis* Boiss., *V. langsdorffii* Fisch., *V. biflora* L., *V. patrinii* Ging., *V. arenaria* DC., *V. selkirkii* Pursh ex Goldie и *V. brachyceras* Turcz.

2. Проведены комплексные исследования растительного сырья *V. uniflora*, *V. sacchalinensis*, *V. langsdorffii*. Химический состав растительных объектов изучался с использованием современных методов физико-химического анализа (УФ-, ИК-спектроскопия, ВЭЖХ, ГЖХ, хромато-масс-спектроскопия, ЯМР <sup>1</sup>H-, ЯМР <sup>13</sup>C-спектроскопия и др.). В сырье изучаемых видов найдены различные группы природных соединений: флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, кумарины, полисахариды, аминокислоты, макро- и микроэлементы, жирные кислоты. Определено содержание основных групп биологически

активных веществ, разработаны методики количественного анализа суммы флавоноидов, фенолкарбоновых кислот и полисахаридов.

3. Впервые в изучаемых видах рода *Viola* идентифицировано 28 соединений фенольной структуры, 25 из которых выделены препаративно и установлена их структура. Из них 5 флавоноидных агликонов: кверцетин, лютеолин, кемпферол, апигенин, нарингенин; 9 флавоноидных гликозидов: С-гликозиды: витексин, ориентин; О-гликозиды: гиперозид, рутин, цинарозид, гесперидин, робинин, афзелин, кверцимеритрин. Также в исследуемых видах найдена группа кумариновых соединений: скополетин, умбеллиферон и кумарин; фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты: галловая, коричная, кофейная, хлорогеновая, неохлорогеновая, феруловая и цикориевая.

4. Углеводы в исследуемом сырье представлены в свободном и связанном виде. В свободном состоянии идентифицированы: глюкоза, галактоза и арабиноза. Связанные сахара находятся в форме полисахаридов и гликозидов. Впервые выделены из указанных видов и изучены отдельные фракции полисахаридных комплексов: ВРПС, ПВ, ГЦ А, ГЦ Б. Выход их составил: ВРПС от  $6,48 \pm 0,15$  % до  $11,12 \pm 0,39$  %; ПВ от  $7,54 \pm 0,14$  % до  $18,0 \pm 0,43$  %; ГЦ А от  $3,14 \pm 0,14$  % до  $9,8 \pm 0,22$  %; ГЦ Б от  $2,88 \pm 0,20$  % до  $7,01 \pm 0,27$  %. После проведенного кислотного гидролиза, выделенных полисахаридных комплексов исследован их моносахаридный состав.

5. Впервые из сырья *V. uniflora*, *V. sacchalinensis*, *V. langsdorffii* выделен липофильный комплекс и определен состав высомолекулярных насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. В результате идентифицировано 24 соединения: а) высокомолекулярные жирные кислоты, преобладали среди них линолевая, п-гексадекановая и линоленовая кислоты; б) дитерпеновый спирт фитол; в)  $\beta$ -ситостерин; г)  $\gamma$ -токоферол; д) производное бензойной кислоты и другие органические соединения.

6. Установлен аминокислотный состав, идентифицировано 23 аминокислоты, 6 из них незаменимые, определено их содержание. Методом рентгенофлуоресцентного анализа изучен элементный состав видов рода фиалка, всего установлено наличие 21 макро- и микроэлемента. Преобладали среди них эссенциальные элементы: калий – до 5,37 %, магний – до 0,52 %, фосфор – 0,48 %. Определен состав и содержание свободных органических кислот.

7. Проведены ресурсоведческие исследования *V. uniflora*, *V. sacchalinensis*, *V. langsdorffii* на территории Восточной Сибири и острова Сахалин. Макроскопический и микроскопический анализ травы *V. uniflora*, *V. sacchalinensis*, *V. langsdorffii* позволил выявить основные диагностические признаки сырья изучаемых видов. Отличительными морфологическими

признаками являются форма и край листовой пластинки, длина черешка, строение цветка, окраска венчика, опушенность листовой пластинки и стебля. Микроскопическим анализом выявлены характерные микродиагностические признаки: аномоцитный тип устьиц, наличие сосочковидных волосков. Диагностически значимыми являются головчатые волоски с многоклеточной головкой, друзы и особенности их строения в мезофилле листа и лепестках венчика.

8. Разработан и предложен способ получения экстракта густого и водорастворимого полисахаридного комплекса из травы *V. uniflora* с использованием ресурсосберегающей технологии, в соответствии с которой предусматривается поочередное получение из сырья экстракта густого, ВРПС и ПВ. Проведена стандартизация густого экстракта по содержанию флавоноидов (не менее 3 %).

9. Разработана рецептура сбора «Бронхолисан». Методами физико-химического анализа (БХ, ТСХ, ВЭЖХ и др.) изучен состав свободных органических кислот и сахаров. Группа фенольных соединений сбора представлена в основном флавоноидами и фенолкарбоновыми кислотами. Всего идентифицировано 15 соединений: галловая, кофейная, цикориевая, феруловая кислоты, танин, катехин, гесперидин, гиперозид, лютеолин-7-гликозид, витексин, кемпферол, рутин, кверцетин, а также кумарин и глицирризиновая кислота. Методом ГЖХ, хромато-масс-спектроскопии исследован состав эфирного масла сбора.

10. Для оценки качества сырья фиалки, экстракта густого, сбора и полисахаридных комплексов (ВРПС, ПВ) разработаны методики качественного и количественного определения основных биологически активных соединений: флавоноидов, фенолкарбоновых кислот и полисахаридов с использованием дифференциальной и прямой спектрофотометрии. На основании экспериментальных данных предложены параметры качества объектов.

11. По результатам исследований разработана нормативная документация и получены свидетельства о государственной регистрации на фиалку одноцветковую № RU.77.99.11.003.Е.008302.04.11. от 01.04.2011 г. и на сбор бронхолитического действия «Бронхолисан» № RU.77.99.11.003.Е.043294.10.11. от 17.10.2011 г. Подготовлены и предложены проекты фармакопейных статей на траву *V. uniflora*, экстракт густой *V. uniflora* и на сбор «Бронхолисан».

## Рекомендации

Проведенные исследования могут служить основой для изыскания новых источников растительного сырья из растений рода *Viola* и расширения номенклатуры отечественных растительных лекарственных средств на их основе.

### Перспективы дальнейшей разработки темы

Перспективы дальнейшей разработки темы диссертационного исследования включают направления, имеющие важное теоретическое и практическое значение: внедрение в отечественную номенклатуру перспективных видов сырья фиалок, распространенных на территории Восточной Сибири, углубленное изучение их фармакологических свойств, проведение доклинических и клинических исследований новых лекарственных средств на основе видов рода *Viola*.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Мартынов, А.М. Фенольные соединения и аминокислоты травы фиалки Лангсдорфа (*Viola langsdorffii*) / А.М. Мартынов, А.М. Собенин // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2008. – № 4. – С. 37–39.
2. Мартынов, А.М. Фиалка песчаная (*Viola arenaria* DC.) новый источник макро- и микроэлементов / А.М. Мартынов, Е.В. Чупарина // **Сибирский медицинский журнал.** – 2008. – № 3. – С. 98–99.
3. Мартынов, А.М. Фенольные соединения и водорастворимые полисахариды фиалки Патрэна / А.М. Мартынов // **Сибирский медицинский журнал.** – 2009. – № 8. – С. 216–218.
4. Мартынов, А.М. Содержание и состав полисахаридных комплексов, макро- и микроэлементов *Viola uniflora* L. (Violaceae) / А.М. Мартынов, Е.В. Чупарина // **Растительные ресурсы.** – 2009. – № 4. – С. 67–73.
5. Мартынов, А.М. Изучение фенольных соединений и элементного состава фиалки двухцветковой (*Viola biflora* L.), произрастающей в Восточной Сибири / А.М. Мартынов, Е.В. Чупарина, Т.Д. Даргаева, О.Л. Сайбель // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2009. – № 4. – С. 58–60.
6. Мартынов, А.М. Исследование химического состава подземных органов фиалки Лангсдорфа / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева, Е.В. Чупарина // **Сибирский медицинский журнал.** – 2010. – № 6. – С. 195–196.

7. Мартынов, А.М. Состав полисахаридных комплексов *Viola langsdorffii* / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева // **Сибирский медицинский журнал.** – 2010. – № 2. – С. 114–116.
8. Мартынов, А.М. Химический состав и применение растений рода фиалка / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева, Е.В. Чупарина // **Сибирский медицинский журнал.** – 2010. – № 5. – С. 121–125.
9. Мартынов, А.М. Изучение химического состава надземной части фиалки сахалинской / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева, А.М. Собенин // **Башкирский химический журнал.** – 2010. – Т. 17. – № 2. – С. 109–112.
10. Мартынов, А.М. Полифенольные соединения и аминокислоты надземной части *Viola uniflora* L. / А.М. Мартынов, А.М. Собенин // **Растительные ресурсы.** – 2011. – № 2. – С. 118–122.
11. Мартынов, А.М. Изучение качественного состава жирорастворимого комплекса, полученного из растительного сбора / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева, К.А. Пупыкина // **Башкирский химический журнал.** – 2011. – Т. 17. – № 5. – С. 138–140.
12. Chuparina, E.V. Application of Nondestructive X-Ray Fluorescence Analysis to Determine the Element Composition of Medicinal Plants / E.V. Chuparina, A.M. Martynov // **J. of Analytical Chemistry.** – 2011. – Vol. 66, – № 4. – P. 389–395.
13. Мартынов, А.М. Состав высших жирных кислот, выделенных из травы *Viola uniflora* L. / А.М. Мартынов, К.А. Пупыкина, Т.Д. Даргаева // **Вестник Воронежского государственного университета. Серия: География. Геоэкология.** – 2011. – № 2. – С. 96–99.
14. Мартынов, А.М. Состав и содержание полифенольных соединений в надземной части фиалки песчаной / А.М. Мартынов // **Сибирский медицинский журнал.** – 2011. – № 2. – С. 114–116.
15. Мартынов, А.М. Биологически активные соединения травы фиалки короткошпорцевой / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева, Е.В. Чупарина // **Химико-фармацевтический журнал.** – 2012. – Т. 46. – С. 31–33.
16. Мартынов, А.М. Фитохимический анализ липофильной фракции, полученной на основе растительного сбора / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева, К.А. Пупыкина // **Медицинский вестник Башкортостана.** – 2011. – Т. 6. – № 5. – С. 126–127.
17. Мартынов, А.М. Исследование гастропротекторного действия спиртового и полисахаридного экстрактов фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов, Л.И. Кобытов, Т.М. Колбовская, Н.В. Семенов // **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.** – 2012. – №1. – С. 120–123.



18. Мартынов, А.М. Идентификация биологически активных соединений фитосбора «Бронхолисан» / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева // **Сибирский медицинский журнал.** – 2012. – № 6. – С. 131–133.
19. Соседова, Л.М. Исследование муколитических и противовоспалительных свойств спиртового экстракта и фитосбора / Л.М. Соседова, А.М. Мартынов, Е.А. Капустина, Е.А. Титов // **Сибирский медицинский журнал.** – 2013. – № 6. – С. 149–152.
20. Мартынов, А.М. Изучение состава эфирного масла фитосбора «Бронхолисан» / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева, К.А. Пупыкина // **Сибирский медицинский журнал.** – 2014. – № 6. – С. 127–129.
21. Мартынов, А.М. Разработка методики количественного определения флавоноидов в траве фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева // **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.** – 2017. – №1. – С. 79–83.
22. Мартынов, А.М. Фитохимическое исследование *Viola uniflora* L. / А.М. Мартынов Сб. Актуальные проблемы клинической медицины. Материалы XI научно-практической конф. – Иркутск, 2001. – С. 268–269.
23. Терехова, А.В. Фенольные соединения фиалки двухцветковой / А.В. Терехова, А.М. Мартынов // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины. Материалы межрегиональной научно-практической конф. молодых ученых. – Иркутск, 2003. – С. 225.
24. Соборкина, О.С. Морфолого-анатомическое исследование надземной части фиалки одноцветковой / О.С. Соборкина, А.М. Мартынов // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины. Материалы межрегиональной научно-практической конф. молодых ученых. – Иркутск, 2006. – С. 283–284.
25. Мартынов, А.М. Исследование химического состава фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов, Г.А. Федорова // Человек и лекарство: материалы XII Российского национального конгресса. – М., 2005. – С. 680.
26. Мартынов, А.М. Фитохимическое исследование фиалки сахалинской (*Viola sacchalinensis* Boiss.) / А.М. Мартынов // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск, 2006. – Вып. 61. – С. 35–36.
27. Мартынов, А.М. Определение антиоксидантной активности фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов // Человек и лекарство: материалы XIII Российского национального конгресса. – М., 2006. – С. 417.
28. Мартынов, А.М. Аминокислотный и минеральный состав фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов, А.М. Собенин // Новые достижения в химической технологии растительного сырья. Материалы III Всероссийской науч. конф. – Барнаул, 2007. Кн. 2. – С. 112–115.

29. Мартынов, А.М. Антиоксидантные свойства фиалки двухцветковой / А.М. Мартынов // VI Всероссийский научный семинар «Химия и медицина»: тез. докладов – Уфа, 2007. – С. 188.
30. Мартынов, А.М. Исследование состава фенолкарбоновых кислот фиалки сахалинской / А.М. Мартынов // Человек и лекарство: материалы XIV Российского национального конгр. – М., 2007. – С. 845.
31. Мартынов, А.М. Исследование полисахаридного комплекса фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск, 2007. – Вып. 62. – С. 91–92.
32. Мартынов, А.М. Фенолкарбоновые кислоты надземной части фиалки двухцветковой / А.М. Мартынов // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск, 2007. – Вып. 62. – С. 92–93.
33. Martynov, A.M. Phenolic compounds of *Viola langsdorffii* organs / A.M. Martynov // Traditional medicine: a current situation and perspectives development: materials of the III international scientific conference. – Ulan-Ude, 2008. – P. 57–58.
34. Мартынов, А.М. Исследование аминокислотного состава фиалки двухцветковой / А.М. Мартынов А.М. Собенин // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск, 2008. – Вып. 63. – С. 65–66.
35. Мартынов, А.М. Флавоноиды фиалки Патрэна / А.М. Мартынов // Человек и лекарство: материалы XV Российского национального конгр. – М., 2008. – С. 218.
36. Чупарина, Е.В. Исследование элементного состава лекарственных растений методом рентгенофлуоресцентного анализа / Е.В. Чупарина, А.М. Мартынов // Материалы VI Всероссийской конференции по рентгеноспектральному анализу (с междунар. участием). – Краснодар, 2008. – С. 131.
37. Мартынов, А.М. Определение биологически активных веществ в надземной части фиалки песчаной / А.М. Мартынов, Е.А. Казанцева // Сб. Актуальные проблемы клинической медицины. Материалы XIII научно-практической конф. – Иркутск, 2008. – С. 265–266.
38. Мартынов, А.М. Микроморфологическое изучение фиалки двухцветковой / А.М. Мартынов // Сб. Актуальные проблемы клинической медицины. Материалы XIII научно-практической конф. – Иркутск, 2008. – С. 263–265.

39. Мартынов, А.М. Макро- и микроэлементный состав фиалки Лангсдорфа / А.М. Мартынов, Е.В. Чупарина // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. научных тр. – Пятигорск, 2009. – Вып. 64. – С. 84–85.
40. Мартынов, А.М. Полисахариды надземной части фиалки Лангсдорфа / А.М. Мартынов // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. научных тр. – Пятигорск, 2009. – вып. 64. – С. 82–84.
41. Мартынов, А.М. Пектиновые вещества фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов // Человек и лекарство: материалы XVI Российского национального конгр. – М., 2009. – С. 696–697.
42. Мартынов, А.М. Фиалка Патрэна – растительный антиоксидант / А.М. Мартынов // Развитие традиционной медицины в России: опыт, научные исследования. Материалы научно-практической конф. – Улан-Удэ, 2009. – С. 321–322.
43. Chuparina, E.V. Assesment of essential element and heavy metal levelsin medicinal herbs from Eastern Siberia by X-Ray fluorescence spectrometry / E.V. Chuparina, A.M. Martynov // Proceeding of the 2nd International Conference on X-Ray Analysis. – Ulaanbaatar, Mongolia, 2009. – S. 215–216.
44. Martynov, A.M. Makro and microelement composition of overground organs of *Viola biflora* L. / A.M. Martynov, E.V. Chuparina // The 4th International Symposium on Traditional Medicine and Innovative Drugs.– Erdos, P.R. China, 2009.– S. 56–57.
45. Мартынов, А.М. Изучение состава аминокислот надземных частей фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов, А.М. Собенин // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. трудов. – Пятигорск, 2010. – Вып. 65. – С. 90–91.
46. Мартынов, А.М. Флавоноиды фиалки Селькирка / А.М. Мартынов, М.Н. Токарева // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. трудов. – Пятигорск, 2010. – Вып. 65. – С. 91–92.
47. Мартынов, А.М. Флавоноидные соединения подземных органов фиалки короткошпорцевой / А.М. Мартынов // Человек и лекарство: материалы XVII Российского национального конгресса. – М., 2010. – С. 674–675.
48. Мартынов, А.М. Аминокислоты подземных частей фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов, А.М. Собенин // Человек и лекарство: материалы XVII Российского национального конгресса. – М., 2010. – С. 675.

49. Мартынов, А.М. Фенольные кислоты фиалки Селькирка / А.М. Мартынов // Химия и медицина: тез. док. VIII Всероссийской конф. (с междунар. участием). – Уфа, 2010. – С. 244-245.
50. Мартынов, А.М. Элементный состав фиалки Селькирка / А.М. Мартынов, Е.В. Чупарина // Химия и медицина: тез. докладов VIII Всероссийской конференции (с междунар. участием). – Уфа, 2010. – С. 242–243.
51. Мартынов, А.М. Биологически активные вещества фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: сб. науч. трудов РАЕН. – М., 2010. – Вып. 18. – С. 124–128.
52. Мартынов, А.М. Фиалка одноцветковая - перспективный источник получения гомеопатических препаратов / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева // Развитие гомеопатического метода в современной медицине: тез. док. Московской междунар. гомеопат. конф. – М., 2011. – С. 178–180.
53. Мартынов, А.М. Разработка методики количественной оценки полифенольных соединений в траве фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2011. – Вып. 66. – С. 152–153.
54. Мартынов, А.М. Исследование состава флавоноидных соединений надземной части *Viola arenaria* DC. методом ВЭЖХ / А.М. Мартынов // Человек и лекарство: материалы XVIII Российского национального конгр. – М., 2011. – С. 615.
55. Martynov, A.M. Production of alcoholic extract and water-soluble complex from the *uniflorous violet* grass using resource-saving technologies. / A.M. Martynov, M. N. Tokareva // Proceedings of the 2nd International Conference «Soil and Biota Diversity of Northern and Central Asia». – Ulan-Ude (Russia), 2011. – Vol. 3. – P. 79–81.
56. Chuparina, E.V. Rationales for the use of x-ray fluorescence analysis in assessment of the elemental composition of Violaceae family plants. / E.V. Chuparina, A.M. Martynov // Proceedings of the 2nd International Conference «Soil and Biota Diversity of Northern and Central Asia». – Ulan-Ude (Russia), 2011. – Vol. 3. – P. 93–94.
57. Мартынов, А.М. Химический состав природных соединений фиалки двухцветковой/ А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: сб. науч. трудов РАЕН. – М., 2011. – Вып. 19. – С. 148–152.

58. Martynov, A.M. Quantitative estimation of polysaccharides in grass *Viola langsdorffii* (Violaceae) by spectrophotometry / A.M. Martynov, T.D. Dargaeva, N.Y. Rozhkova // Materiály VIII mezinárodní vědecko – praktická conference «Dnyvědy – 2012». Biologické vědy: Praha. Publishing House «Education and Science». – P. 37–40.

59. Мартынов, А.М. Исследование минерального состава экстракта фиалки одноцветковой рентгенофлуоресцентным методом / А.М. Мартынов, Е.В. Чупарина // Человек и лекарство: материалы XIX Российского национального конгресса. – М., 2012. – С. 402–403.

60. Мартынов, А.М. Исследование элементного состава надземной части *Viola brachyceras* Turcz. (Violaceae) / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева // Развитие гомеопатического метода в современной медицине: сб. матер. XXII Московской международной гомеопат. конф. – М., 2012. – С. 223–224.

61. Мартынов, А.М. Количественная оценка полисахаридов в траве фиалки методом спектрофотометрии / А.М. Мартынов // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. научных тр. – Пятигорск, 2012. – Вып. 67. – С. 76–78.

62. Мартынов, А.М. Элементный состав фитосбора бронхолитического действия / А.М. Мартынов, Е.В. Чупарина // Кластерные подходы фармацевтического союза: образование, наука и бизнес. Сб. науч. тр. по матер. 2-й Междунар. науч.-практ. конф. – Белгород, 2012. – С. 174–176.

63. Мартынов, А.М. Изучение состава фенольных соединений экстракта *Viola uniflora* / А.М. Мартынов // Современное общество, образование и наука: сб. науч. тр. по матер. Междунар. заоч. научно-практической конференции, Мин. образ. и науки. – Тамбов, 2012. – Ч. 2. – С. 99–100.

64. Чупарина, Е.В. Рентгенофлуоресцентный анализ лекарственных растений Восточной Сибири / Е.В. Чупарина, А.М. Мартынов, О.И. Жапова // Современные проблемы геохимии: сб. науч. тр. по матер. Всероссийского совещания. – Иркутск, 2012. – С. 282–283.

65. Мартынов, А.М. Спектрофотометрическое определение полисахаридов в надземной части фиалки Патрэна / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева // Развитие гомеопатического метода в современной медицине: Сб. матер. XXIII Московской междунар. гомеопат. конф. – М., 2013. – С. 177–178.

66. Корытов, Л.И. Сравнительное изучение отхаркивающего действия травы фиалки одноцветковой и фиалки трехцветной / Л.И. Корытов, А.М. Мартынов, В.Д. Пивень, Н.В. Семенов // Человек и лекарство: материалы XX Российского национального конгр. – М., 2013. – С. 360.

67. Мартынов, А.М. Количественная оценка функциональных групп пектиновых веществ фиалки одноцветковой / А.М. Мартынов, М.Н. Токарева // Современные тенденции в образовании и науке: сб. науч. тр. по материалам междунар. науч.-практич. конф. – Тамбов, 2013. – Ч. 8. – С. 98–99.
68. Мартынов А.М. Состав и стандартизация спиртового экстракта *Viola uniflora* / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева, Е.В. Чупарина // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2013. – № 1. – С. 19–24.
69. Мартынов, А.М. Аминокислотный состав фитосбора бронхолитического действия / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева // Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы. сб. науч. тр. по материалам 1-й Междунар. науч. конференции. – Новосибирск, 2013. – С. 200–202.
70. Мартынов, А.М. Пектиновые вещества *Viola sacchalinensis* / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева // Химическая наука: современные достижения и историческая перспектива. Сб. матер. I Всероссийской научной Интернет конф. с междунар. участием. – Казань, 2013. – С. 107–108.
71. Chuparina, E.V. Comparative study of mineral composition of some violet species growing in Siberia / E.V. Chuparina, A.M. Martynov // Traditional medicine: Ways of integration with modern Health care. VI International scientific conference. – Ulan-Ude, 2013. – P. 28.
72. Martynov, A.M. Standardization of phyto-collection for therapy of the upper respiratory tracts / A.M. Martynov, T.D. Dargaeva // Traditional medicine: Ways of integration with modern Health care. VI International scientific conference. – Ulan-Ude, 2013. – P. 42.
73. Мартынов, А.М. Фиалки Сибири – перспективные источники лекарственных средств / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева // Развитие традиционной медицины в России: сб. материалов IV Всероссийской конф. с междунар. участием. – Улан-Удэ, 2014. – С. 286–287.
74. Martynov, A.M. Chemical and biological study of species of the genus *viola* of the flora of Eastern Siberia / A.M. Martynov, T.D. Dargaeva // Topical issues of acupuncture and traditional medicine in the field of prevention, treatment and medical rehabilitation of patients with deferent diseases: abstracts book of the First International Baikal Symposium «Traditional medicine and rehabilitation». – Irkutsk: IGMARO, 2015. – P. 56–57.
75. Мартынов, А.М. Ресурсные исследования фиалки одноцветковой (*Viola uniflora* L.), произрастающей в Восточной Сибири / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева, В.Н. Дул // Молодые ученые и фармация XXI века: сб. науч.

трудов IV науч.-практической конф. с междунар. участием. – М., ВИЛАР. 2016. – С. 77–81.

76. Martynov, A.M. The study of the composition of the organic acids of *Viola uniflora* L. / A.M. Martynov, T.D. Dargaeva // Abstracts Book. Topical issues of acupuncture, homeopathy and phytotherapy in the field of prevention, treatment and medical rehabilitation. Second International Baikal Symposium «Traditional medicine and rehabilitation». Ulan-Ude, 2016. – P. 54–55.

### Монографии

77. Мартынов, А.М. Фитотерапия заболеваний органов дыхания. Монография / А.М. Мартынов, Б.А. Черняк. – Иркутск: РИО ГИУВа, 2008. – 144 с.

### Патенты

78. Патент на изобретение №2480746. Российская Федерация. Способ количественного определения полисахаридов в траве видов рода фиалка / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева. – № 2011145407; заявл. 08.11.2011; опубл. 27.04.2013 г.

79. Патент на изобретение № 2500419. Российская Федерация. Средство для лечения язвенных поражений слизистой оболочки желудка / А.М. Мартынов, Л.И. Корытов. – № 2012106225; заявл. 21.02.2012; опубл. 10.12.2013 г.

**Список условных сокращений:** БАВ – биологически активные вещества; БАД – биологически активные добавки; БХ – бумажная хроматография; ВРПС – водорастворимые полисахариды; ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ГЖХ – газожидкостная хроматография; ГФ – Государственная фармакопея; ЛРС – лекарственное растительное сырье; РФА – рентгенофлуоресцентный анализ; ТСХ – тонкослойная хроматография; ТУ – технические условия; УФ – ультрафиолетовый спектр; ФС – фармакопейная статья; ЯМР – ядерный магнитный резонанс,  $\lambda_{\max}$ ,  $\lambda_{\min}$  – максимум и минимум поглощения в УФ спектре.

*Автор выражает особую благодарность научному консультанту – доктору фарм. наук, профессору Т.Д. Даргаевой за ценные советы, поддержку и помощь в выполнении диссертационной работы. Автор также выражает искреннюю признательность и благодарность доктору мед. наук, профессору кафедры нормальной физиологии ИГМУ Л.И. Корытову, кандидату хим. наук, ст. н. с. института геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН Е.В. Чупариной за консультативную и практическую помощь при выполнении работы.*

Мартынов Альберт Михайлович

**Перспективные виды рода *Viola L.* флоры Восточной Сибири, их фармакогностическое исследование и стандартизация.**

Сформулирован и предложен методологический подход к поиску перспективных растительных объектов и разработке на их основе растительных средств, предназначенных для профилактики и комплексного лечения заболеваний органов дыхания воспалительного характера. Исследован состав фенольных соединений, полисахаридных комплексов и других биологически активных соединений. Получен экстракт густой с использованием ресурсосберегающей технологии с последующим выделением из растительного сырья водорастворимого и пектинового комплексов. Впервые предложены новые виды растительного сырья, сбор. На основе изучения химического состава разработанных средств с применением современных физико-химических методов анализа установлены критерии подлинности и показатели качества для их стандартизации. Приоритет выполненных научных исследований подтвержден 2 патентами РФ.

Martynov Albert Mikhailovich

**Promising species of the genus *Viola L.* flora of Eastern Siberia, their pharmacognostic study and standardization.**

A methodological approach to the search for promising plant objects and the development of herbal remedies based on them for the prevention and complex treatment of inflammatory respiratory diseases is formulated and proposed. The composition of phenolic compounds, polysaccharide complexes and other biologically active compounds was studied. Thick extract was obtained using resource-saving technology, followed by the isolation of water-soluble and pectin complexes from plant raw materials. For the first time, new types of plant raw materials, collection, are proposed. Based on the study of the chemical composition of the developed products using modern physical and chemical analysis methods, the authenticity criteria and quality indicators for their standardization are established. The priority of the performed scientific research is confirmed by 2 patents of the Russian Federation.