

УДК 615.322: 547.9 + 543.544



АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ХИМИЧЕСКОЙ СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ РОДА БОЯРЫШНИК (*CRATAEGUS L.*)

Т.В. Морозова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Самарский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
443099, Россия, Приволжский федеральный округ, Самарская область, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89
E-mail: tanyfrost@mail.ru

Растения рода Боярышник (*Crataegus L.*) – кустарники или небольшие деревья, которые используются в медицине с глубокой древности. На сегодняшний день на основе сырья боярышника получают препараты для лечения и профилактики сердечной недостаточности. **Целью** работы является анализ и систематизация результатов исследований в области химической стандартизации сырья боярышника в фармакопеях различных стран. **Материалы и методы.** Исследование проводилось с использованием Государственной фармакопеи СССР XI издания, Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания, Европейской фармакопеи 6 издания, фармакопеи Соединенных Штатов Америки 32 издания, Государственной фармакопеи Республики Беларусь и Республики Казахстан, а также информационно-поисковых (*PubMed*) и библиотечных баз данных (*eLibrary*). **Результаты и обсуждение.** В настоящем обзоре систематизированы результаты исследований в области химической стандартизации сырья боярышника в фармакопеях различных стран. Определено, что в методиках анализа сырья видов рода Боярышник (*Crataegus L.*), включенных в отечественные и зарубежные фармакопеи, используются различные методические и методологические подходы к стандартизации плодов, цветков и листьев. Кроме того, обнаружено, что сырье одного наименования анализируется с использованием различных методик. На наш взгляд, использование в методиках различных экстрагентов не всегда обосновано с точки зрения физико-химических и спектральных характеристик анализируемых веществ. Показано также, что в методиках качественного и количественного анализа действующих веществ (флавоноиды, процианидины) не всегда ведется ориентация на диагностически значимые стандартные вещества. **Заключение.** Проведенный анализ существующих методик качественного анализа (раздел подлинность) и количественного определения целевых веществ свидетельствует о том, что необходима унификация методик анализа сырья и препаратов видов рода боярышник на основе научно обоснованных подходов к стандартизации.

Ключевые слова: боярышник, *Crataegus L.*, стандартизация, химический состав, фитохимия, фармакологические свойства

ACTUAL PROBLEMS OF RAW MATERIALS CHEMICAL STANDARDIZATION OF MEDICINAL PLANTS OF THE GENUS HAWTHORN (*CRATAEGUS L.*)

T.V. Morozova, V.A. Kurkin, O.E. Pravdivtseva

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education “Samara State Medical University”
89, Str. Chapayevskaya, Samara, Samara Region, Volga Federal District, Russia, 443099
E-mail: tanyfrost@mail.ru

The plants of the genus Hawthorn (*Crataegus L.*) are shrubs or small trees that have been used in medicine since ancient times. Nowadays, on the basis of raw hawthorn, the preparations are available for treatment and prevention of

Для цитирования:

Морозова Т.В., Куркин В.А., Правдивцева О.Е.
АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ХИМИЧЕСКОЙ
СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
РАСТЕНИЙ РОДА БОЯРЫШНИК (*CRATAEGUS L.*).
Фармация и фармакология. 2018;6(2):104-120.
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-2-104-120
© Морозова Т.В., Куркин В.А., Правдивцева О.Е.

For citation:

Morozova T.V., Kurkin V.A., Pravdivtseva O.E.
ACTUAL PROBLEMS OF RAW MATERIALS
CHEMICAL STANDARDIZATION OF MEDICINAL
PLANTS OF THE GENUS HAWTHORN (*CRATAEGUS L.*).
Pharmacy & Pharmacology. 2018;6(2):104-120. (In Russ.)
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-2-104-120

heart failure. **The aim** of the work is to analyze and systematize research results in the field of chemical standardization of hawthorn raw materials in pharmacopoeias of various countries. **Materials and methods.** The study was conducted with the use of the State Pharmacopoeia of the USSR, XI-th edition, the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII-th edition, the European Pharmacopoeia, 6-th edition, the United States Pharmacopoeia, 32-nd editions, the State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus and the Republic of Kazakhstan, as well as the information and search (PubMed) and library databases (eLibrary). **Results and discussion.** In this review, the results of research in the field of chemical standardization of hawthorn raw materials in pharmacopoeias of various countries are systematized. It is determined that in the methods of analysis of raw materials of the species of the genus Hawthorn (*Crataegus L.*), included in domestic and foreign Pharmacopoeias, various methodological and methodological approaches to the standardization of fruits, flowers and leaves are used. Besides, it has been found out that the raw materials of the same name are analyzed using different techniques. In our opinion, the use of various extractants in the methods is not always justified from the point of view of the physical-chemical and spectral characteristics of the substances being analyzed. It is also shown that in the methods of qualitative and quantitative analysis of active substances (flavonoids, procyanidins), the orientation to diagnostically significant standard substances is not always conducted. **Conclusion.** The analysis of existing methods of qualitative analysis (the section of authenticity) and quantitative determination of the target substances indicates the necessity to unify the methods of raw materials analysis and preparations of hawthorn species on the basis of scientifically based approaches to standardization.

Keywords: hawthorn, *Crataegus L.*, standardization, chemical composition, Phytochemistry, pharmacological properties

ВВЕДЕНИЕ. В настоящее время лекарственные растительные препараты набирают все большую популярность и используются как в лечении, так и для профилактики различных заболеваний [1, 2]. Это, возможно, связано с тем обстоятельством, что лекарственные растительные препараты обладают низкой токсичностью при достаточно высокой эффективности, широким спектром терапевтического действия, комплексным эффектом на организм человека при их рациональном применении, а также относительной дешевизной по сравнению с синтетическими препаратами [3].

На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания остаются наиболее важной социальной и медицинской проблемой во многих странах. Так, по данным Всемирной организации здравоохранения, сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности в мире, поэтому особую актуальность приобретают вопросы профилактики и своевременного лечения данной патологии [4, 5]. В этой связи интересными являются лекарственные препараты на основе боярышника [6, 7].

Препараты на основе боярышника с давних времен используются в народной медицине. Первые упоминания о положительном действии боярышника на сердце относятся к первому веку нашей эры [8]. Применение боярышника для лечения сердечно-сосудистых заболеваний относится к концу 1800-х годов, тогда предполагалось, что боярышник можно использовать в качестве альтернативной терапии для лечения различных сердечно-сосудистых заболеваний, таких как стенокардия, гипертония, гиперлипидемия, аритмия и др. [9].

Авторами описаны исследования по снижению уровня холестерина и триглицеридов в крови у животных при применении сырья боярышника [10, 11]. В исследованиях на крысах, мышах, кроликах и кошках было показано, что экстракт боярышника может медленно и устойчиво снижать кровяное давление за счет расширения периферических сосудов [12, 13].

Для сырья боярышника некоторыми авторами отмечается также и наличие антибактериальной активности в отношении ряда микроорганизмов, в частности в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans* [14, 15].

Кроме того, в некоторых источниках описано наличие антиоксидантного действия извлечений из сырья боярышника [16, 17, 18].

В настоящее время боярышник привлекает внимание врачей и исследователей своими кардиотоническими и кардиопротекторными свойствами, что подтверждается многочисленными клиническими исследованиями [19]. Так, проведенный в 2003 году метаанализ рандомизированных плацебо-контролируемых исследований применения экстракта боярышника (*Crataegus pinnatifida* Bunge) для лечения пациентов с хронической сердечной недостаточностью показал наличие благоприятного для сердечно-сосудистой системы действия по сравнению с плацебо [20]. Группа китайских ученых в 2014 году опубликовала рандомизированное, двойное слепое исследование применения многокомпонентного растительного препарата на основе боярышника при лечении дислипидемии. В результате проведенного исследования было выявлено, что указанный растительный препарат вызывал небольшое снижение содержания в плазме липопротеинов низкой плотности после 12-недельного курса лечения, не вызывая при этом нежелательных явлений [21]. В 2015 году группа иранских ученых провела сравнительное исследование влияния аэробных физических упражнений и применения экстракта боярышника (*Crataegus oxyacantha* L.) на молекулы внутриклеточной адгезии 1 типа и E-селектина у пациентов со стабильной стенокардией. В результате был сделан вывод, что аэробные упражнения и применение экстракта *Crataegus oxyacantha* L. в качестве дополнительной терапии эффективно снижают риск развития атеро-

склероза и дальнейших проблем с сердечно-сосудистой системой [22]. Интересно также и то, что в 2016 году было опубликовано исследование, в ходе которого был сделан вывод, что экстракт из листьев боярышника (*Crataegus azarolus* L.) стимулирует антипролиферативную активность, арест клеточного цикла и апоптоз в человеческих клетках рака толстого кишечника HT-29 и HCT-116 [23].

В Российской Федерации для получения кардиотонических лекарственных средств используют цветки и плоды боярышника (*Crataegus* L.) [24, 25]. За рубежом распространение получили лекарственные препараты на основе листьев и цветков боярышника [26, 27, 28].

На территории нашей страны встречаются около 40 видов дикорастущих боярышников [29, 30]. Из 12 видов боярышника, включенных в действующую Государственную Фармакопею СССР XI издания (ГФ СССР XI), на территории Российской Федерации произрастает 9, причем фармакопейными видами сырья боярышника в России являются плоды и цветки [24, 25]. Качество сырья на данный момент регламентирует ГФ СССР XI издания, так как в действующую Государственную фармакопею Российской Федерации XIII издания обсуждаемые виды сырья боярышника пока не включены [31, 32, 33].

Фармакопея Соединенных Штатов Америки 32 издания описывает сырье боярышника, представляющее собой листья с цветками, собранными от видов *Crataegus monogyna* Jacq. или *Crataegus laevigata* (Poir.) DC., также известного как *Crataegus oxyacantha* L [27]. Европейская фармакопея 8 издания к лекарственным видам сырья боярышника относит плоды таких видов, как *Crataegus monogyna* Jacq (Lindm.), *C. laevigata* (Poir.) (синоним *C. oxyacantha* L.) и листья с цветками *Crataegus monogyna* Jacq. (Lindm.) или *C. laevigata* (Poir.) DC. (синонимы *C. oxyacanthoides* Thuill.; *C. oxyacantha* auct.) и других европейских видов боярышника, включая *C. pentagyna* Waldst., *C. nigra* Waldst. и *C. azarolus* L [26]. Белорусская фармакопея включает статьи из Европейской фармакопеи на плоды, листья с цветками, а также отдельные статьи на цветки и листья боярышника. Фармакопейными считаются листья *Crataegus sanguinea* Pall. и *C. laevigata* (Poir) DC. (синоним *C. oxyacantha sensu* Pojark.) и цветки 14 видов боярышника, среди которых: *Crataegus sanguinea* Pall.; *C. laevigata* (Poir) DC., *C. korolkowii* L. Henry; *C. altaica* (Loud.) Lange и др. [28]. Фармакопея Республики Казахстан к лекарственному виду сырья относит плоды *Crataegus monogyna* Jacq. или *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. (синоним *Crataegus oxyacantha* L.) [34].

По литературным данным известно, что листья, цветки и плоды боярышника содержат множество биофлавоноидов, которые, как представляется, в первую очередь, ответственны за кардиотоническое действие растения, что привело к разработке и применению экстрактов из листьев и цветков боярышника в Европейских странах. Биофлавоноиды, об-

наруженные в боярышнике, включают олигомерные процианидины, витексин, кверцетин и гиперозид. Также в сырье боярышника содержатся витамин С, сапонины, дубильные вещества, кардиотонические амины (фенилэтиламин, тирамин, изобутиламин, О-метоксифенилэтиламин, холин и ацетилхолин), производные пурина (аденозин, аденин, гуанин, кофеин, амигдалин), тритерпеновые кислоты (урсоловая кислота) [35, 36, 37, 38, 39].

В результате проведенных группой самарских ученых исследований, из плодов боярышника выделен доминирующий флавоноид – витексин, а из цветков боярышника – гиперозид [40].

ЦЕЛЬЮ работы является анализ и систематизация результатов исследований в области химической стандартизации сырья боярышника в фармакопеях различных стран.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Исследование проводилось с использованием Государственной фармакопеи СССР XI издания, Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания, Европейской фармакопеи 6 издания, фармакопеи Соединенных Штатов Америки 32 издания, Государственной фармакопеи Республики Беларусь и Республики Казахстан, а также информационно-поисковых (*PubMed*) и библиотечных баз данных (*eLibrary*).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Определение подлинности сырья боярышника

1.1. Плоды

ГФ СССР XI издания для плодов растений рода Боярышник в разделе «Качественные реакции» описывает метод тонкослойной хроматографии (ТСХ), предусматривающий обнаружение гиперозида в присутствии государственного стандартного образца (ГСО) гиперозида в системе хлороформ-метиловый спирт (8:2). При этом детекцию анализируемых веществ проводят в ультрафиолетовом свете (УФ-свет) при длине волны 360 нм. На уровне пятна ГСО гиперозида должна появиться полоса темно-коричневого цвета, затем пластинку обрабатывают 5% спиртовым раствором алюминия хлорида и нагревают, после чего пятно приобретает желто-зеленую флуоресценцию в УФ свете (гиперозид) при длине волны 360 нм [24].

Европейская фармакопея 8 издания (ЕФ) и фармакопеи Республики Беларусь и Республики Казахстан в качестве метода качественного анализа плодов боярышника описывают тонкослойную хроматографию на пластинке со слоем силикагеля Р (система растворителей: кислота муравьиная безводная – вода – метилэтилкетон – этилацетат 10:10:30:50, об/об/об/об) при использовании раствора сравнения, состоящего из хлорогеновой кислоты, кофейной кислоты, гиперозида и рутина, растворенных в метаноле. После прохождения фронта растворителя пластинку высушивают и опрыскивают 1% раствором аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты в метаноле, а затем 50 г/л раствором макрогло 400 в метаноле. Далее пластинку просматривают в ультрафиолето-

вом свете при длине волны 365 нм, в результате чего на пластинке в случае раствора сравнения должны быть видны следующие зоны флуоресценции (снизу-вверх по мере увеличения R_f): желто-коричневая флуоресцирующая зона (рутин), светло-голубая флуоресцирующая зона (хлорогеновая кислота) и желтовато-коричневая флуоресцирующая зона (гиперозид); в верхней трети пластинки светло-голубая флуоресцирующая зона (кофейная кислота). В случае испытуемого раствора на пластинке обнаруживаются 3 зоны, сходные по расположению и флуоресценции с раствором сравнения, эти зоны соответствуют хлорогеновой кислоте, гиперозиду и кофейной кислоте. Кроме того, отмечается наличие 3 слабых красноватых флуоресцирующих зон, одна из которых по расположению соответствует рутину, а две остальные зоны расположены выше зоны гиперозид и ниже флуоресцирующей зоны светло-синего цвета, которая находится ниже зоны кофейной кислоты [26, 28, 34].

На наш взгляд, вышеперечисленные вещества, используемые как стандартные образцы (хлорогеновая кислота, кофейная кислота, гиперозид и рутин), широко встречаются в лекарственных растениях и, следовательно, не являются специфичными для плодов боярышника. Поэтому, нам представляется, что данный подход в отношении анализа плодов боярышника вряд ли можно считать целесообразным.

1.2. Цветки

Цветки представлены в Государственной фармакопее СССР XI издания (ФС 8) и фармакопее Республики Беларусь.

ГФ СССР XI издания для качественного анализа цветков боярышника предлагает метод ТСХ на пластинках «Силуфол» в присутствии стандартного образца гиперозид в системе: хлороформ-метилловый спирт (8:2). При этом детекцию проводят в ультрафиолетовом свете при длине волны 360 нм. На уровне пятна ГСО гиперозид должна появиться полоса темно-коричневого цвета. Затем пластинку обрабатывают 5% спиртовым раствором алюминия хлорида и нагревают, после чего пятно приобретает желто-зеленую флуоресценцию в УФ-свете (гиперозид) при длине волны 360 нм [24].

В фармакопее Республики Беларусь в качестве

метода качественной оценки цветков боярышника представлен метод тонкослойной хроматографии в системе: хлороформ-метанол (80:20, об/об) с использованием гиперозид в качестве стандартного образца. Проявление пластинки проводят в ультрафиолетовом свете при длине волны 365 нм и дневном свете, предварительно обработав пластинку раствором алюминия хлорида с последующим нагреванием. При этом в ультрафиолетовом свете отмечается желто-зеленая флуоресценция (гиперозид), а в дневном свете – ярко-желтая окраска [28].

Мы считаем, что подход с использованием ГСО гиперозид, который является одним из характерных флавоноидов цветков боярышника, является объективным и позволяет адекватно определять подлинность данного сырья.

1.3. Листья с цветками

В фармакопее США качественное определение листьев с цветками боярышника проводят с использованием тонкослойной хроматографии. В качестве стандартов применяют раствор рутина, хлорогеновой кислоты, гиперозид и витексина. Система растворителей включает: этилацетат – воду – ледяную уксусную кислоту – муравьиную кислоту (10 : 2,6 : 1,1 : 1,1). Проявление пластинки проводят раствором 2-аминоэтилдифенилбората в метаноле (1%), затем обработкой раствором полиэтиленгликоля 4000 в метаноле (5%) и затем просматривают в УФ-свете [27].

Кроме того, в фармакопее США предусмотрен качественный анализ листьев с цветками боярышника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Раствор сравнения состоит из рутина, хлорогеновой кислоты, гиперозид и витексина, растворенных в метаноле. Раствор А состоит из смеси тетрагидрофурана, метанола и ацетонитрила (92,4 : 4,2 : 3,4). Раствор Б состоит из 0,5% раствора фосфорной кислоты в воде. Детектирование проводят при длине волны 336 нм на колонке размером 4,0 мм × 10 см, которая содержит частицы наполнителя L1 размером 5 мкм. Температура колонки поддерживается на уровне 25°C. По отдельности в хроматограф вводят равные объемы (5 мкл) испытуемого раствора и раствора сравнения, затем измеряют время удерживания основных пиков. Для раствора сравнения время удерживания представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Время удерживания основных пиков для раствора сравнения

Вещество	Время удерживания, минуты
Хлорогеновая кислота	0.26
Гиперозид	1.4
Витексин	1.0
Рутин	1.16

Для испытуемого раствора время удерживания основных пиков состоит из времени удерживания для хлорогеновой кислоты, витексина, рутина и гиперозид, соответствующих таковому для раствора

сравнения, а также времени удерживания ацетилвитексин-2"-О-рамнозида, витексина, изовитексина и витексин-2"-О-рамнозида, представленных в таблице 2 [27].

Таблица 2 – Время удерживания основных пиков испытуемого раствора

Вещество	Время удерживания, минуты
Ацетилвитексин-2"-О-рамнозид	1.53
Витексин	1.0
Изовитексин	0.73
Витексин-2"-О-рамнозид	0.67

По нашему мнению, данная методика довольно громоздка и затруднительна с точки зрения интерпретации результатов анализа, так как на хроматограмме испытуемого раствора определяют вещества, отсутствующие в растворе сравнения.

В Европейской фармакопее и фармакопее Республики Беларусь в разделе «Качественное определение» листьев с цветками боярышника предусмотрен метод тонкослойной хроматографии при использовании раствора сравнения, состоящего из хлорогеновой кислоты и гиперозида, растворенных в метаноле. В качестве подвижной фазы используют систему: безводная кислота муравьиная – вода – метилэтилкетон-этилацетат (10 : 10 : 30 : 50). Проявляют распылением раствора, состоящего из 10 г/л раствора аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты в метаноле, а затем распыляют 50 г/л раствор полиэтиленгликоля в метаноле, после чего проявляют в УФ-свете при 365 нм [26, 28].

Как мы видим, существуют некоторые разногласия касательно анализа листьев с цветками боярышника, которые вытекают из использования различных подходов к стандартизации сырья. Следовательно, остается нерешенным вопрос какой метод считать адекватным, исходя из особенностей флавоноидного состава исследуемого сырья.

1.4. Листья

Листья, как вид лекарственного растительного сырья, описаны лишь в фармакопее Республики Беларусь. Для определения подлинности в фармакопее представлены реакции с аммонием хлоридом (зеленовато-желтое окрашивание при нагревании), раствором железа (III) аммония сульфатом в присутствии кислоты хлористоводородной в бутаноле (красное окрашивание при нагревании) [28].

На наш взгляд, для определения подлинности листьев боярышника целесообразно добавить метод тонкослойной хроматографии с использованием стандартных образцов.

Подводя итог данного раздела, нам представляется, что анализ подлинности всех видов сырья боярышника необходимо проводить по диагностически значимым веществам. Так, качественный анализ цветков с использованием ГСО гиперозида является объективным (ГФ СССР XI издания, фармакопее Республики Беларусь), использование четырех стандартов (хлорогеновая кислота, кофейная кислота, гиперозид и рутин) для определения подлинности плодов боярышника (ЕФ) не совсем целесообразно, так как данные вещества не являются специфичными для обсуждаемого вида сырья и часто встречаются в других растениях. На наш взгляд, в случае побегов

(листья с цветками) имеет смысл использовать смесь стандартов, однако не все стандартные вещества (рутин, хлорогеновая кислота, гиперозид и витексин), описанные в фармакопее США для определения подлинности листьев с цветками боярышника, являются специфичными для данных частей растения. Раздел «Подлинность» для листьев боярышника по Белорусской фармакопее также нуждается в усовершенствовании, так как только качественных реакций недостаточно для определения подлинности сырья.

2. Количественное определение флавоноидов в сырье боярышника

Одним из важнейших параметров методики количественного определения в лекарственном растительном сырье является экстракция.

Для целей количественного определения сырья боярышника в разных фармакопеях используют различные варианты экстракции. Так, для экстракции плодов боярышника ГФ СССР XI издания предлагает нагревание с 95% спиртом в течение 1 часа, а Европейская фармакопея, фармакопее Республики Беларусь и Республики Казахстан предлагают экстракцию 70% этиловым спиртом при нагревании в течение 30 минут.

Цветки по фармакопее Республики Беларусь экстрагируют 96% спиртом этиловым при нагревании в течение одного часа, а по ГФ СССР XI издания 95% спиртом этиловым при нагревании в течение одного часа [28].

Экстракцию листьев с цветками по фармакопее США проводят метанолом в течение 5 часов, а по Европейской и Белорусской фармакопеям 60% спиртом в течение 10 минут [27].

Листья согласно Белорусской фармакопее экстрагируют 70% этиловым спиртом при нагревании в течение 1 часа [28].

Как мы видим, время экстракции и экстрагент для одних и тех же видов сырья сильно разнятся, что свидетельствует о необходимости проведения дополнительных исследований по подбору оптимального экстрагента и условий экстракции. При разработке методики количественного определения суммы флавоноидов важным является научно обоснованный выбор экстрагента с учетом особенностей фитохимического состава сырья.

2.1. Плоды

В соответствии с ГФ СССР XI издания раздел «Количественное определение» включает хромато-спектрофотометрический метод оценки суммы флавоноидов (в пересчете на гиперозид), содержание которых в плодах должно быть не менее 0,06%, при длине волны 365 нм [24].

Количественное определение плодов в Европейской фармакопее и фармакопеях Республики Беларусь и Республики Казахстан предполагает спектрофотометрическое определение содержания процианидинов в пересчете на цианидина хлорид, которого должно быть не менее 0,06% (ЕФ) и не менее 1,0% (фармакопеи Республики Беларусь и Республики Казахстан), при длине волны 550 нм (ЕФ) и 545 нм (фармакопеи Республики Беларусь и Республики Казахстан). Кроме того, в фармакопее Республики Беларусь описан метод хромато-спектрофотометрического определения содержания флавоноидов в пересчете на гиперозид, которого в сухих плодах должно быть не менее 0,06%, при длине волны 365 нм [26, 28, 34].

Как мы видим, в представленных нормативных документах рекомендуются различные подходы к количественному определению содержания флавоноидов в плодах боярышника. Кроме того, имеет место различие не только в методе определения (хромато-спектрофотометрический и спектрофотометрический), но и в выборе показателя качества (сумма флавоноидов в пересчете на гиперозид или суммы процианидинов).

2.2. Цветки

Для количественного определения цветков боярышника в ГФ СССР XI приводится хромато-спектрофотометрическое определение содержания гиперозида в цветках (не менее 0,5%), при длине волны 360 нм [24].

В фармакопее Республики Беларусь количественный анализ цветков боярышника проводят хромато-спектрофотометрическим методом, с помощью которого определяют содержание гиперозида, его должно быть не менее 0,5%, при длине волны 365 нм [28].

Хромато-спектрофотометрическое определение, на наш взгляд, громоздко и трудно в исполнении и не лишено недостатка с точки зрения точности метода [24, 31].

2.3. Листья с цветками

Количественное определение листьев с цветками боярышника по фармакопее США включает определение методом высокоэффективной жидкостной хроматографии С-гликозилированных флавонов в пересчете на витексин, содержание которых должно быть не менее 0,6% и О-гликозилированных флавонов в пересчете на гиперозид, содержание которых должно быть не менее 0,45%. Детектирование при определении С-гликозилированных флавонов проводят при длине волны 336 нм на колонке размером 4 мм x 10 см и скоростью потока около 1,0 мл в минуту. При определении О-гликозилированных флавонов (термин взят из ФС, однако речь здесь идет о флавонолах) используют детекцию при длине волны 370 нм на колонке размером 4,6 мм x 25 см со скоростью потока 1,5 мл в минуту [27].

Количественное определение целевых веществ в листьях с цветками по Европейской фармакопее и фармакопее Республики Беларусь включает спектро-

фотометрическое определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, которого в сырье должно быть не менее 1,5%, при длине волны 405 нм (Европейская фармакопея) и 410 нм (фармакопея Республики Беларусь) [26, 28].

По всей видимости, в этом случае необходимо дополнительное исследование на соответствие выбора аналитической длины волны, характерной для тех веществ, которые содержатся в сырье.

2.4. Листья

Для количественного определения действующих веществ в листьях боярышника в фармакопее Республики Беларусь описано спектрофотометрическое определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин (не менее 0,25%) при длине волны 409 нм и спектрофотометрическое определение содержания суммы процианидинов в пересчете на цианидина хлорид (не менее 5,0%) при длине волны 550 нм [28].

На наш взгляд, выводы относительно объективности данной методики могут быть сделаны только после углубленного изучения химического состава данного вида сырья.

3. Методики анализа сырья боярышника, предложенные отдельными авторами

3.1. Плоды

В некоторых источниках описана методика количественного определения процианидинов в плодах боярышника с использованием модифицированного метода Портера. В ходе данной методики получают извлечение из плодов боярышника с помощью 70% этилового спирта, к извлечению добавляют кислый раствор бутанола, железосодержащий реактив (для кислотного расщепления процианидинов до антоцианов), а затем измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 550 нм [41].

Самарскими учеными была предложена методика анализа содержания суммы флавоноидов плодов боярышника с предварительным получением извлечения на основе 70% этилового спирта в пересчете на гиперозид с использованием дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 412 нм [42].

3.2. Цветки

Для цветков боярышника была предложена методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 412 нм и предварительным получением извлечения на основе 70% этилового спирта [43].

3.3. Листья с цветками

Разработана методика определения подлинности листьев с цветками боярышника методом тонкослойной хроматографии в подвижной фазе: этилацетат-уксусная кислота-вода (5 : 1 : 1) в присутствии растворов свидетелей: рутин, витексин, хлорогеновая кислота, гиперозид [44]. Кроме того, предложена методика качественного и количественного определения витексина, рутина, гиперозида и кверцетина в

сырье листья с цветками боярышника методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием после предварительной экстракции с помощью 70% этилового спирта [45].

Иностранцами учеными была также разработана методика количественного определения процианидинов в листьях с цветками боярышника методом сверхэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием с предварительным получением водно-ацетонового извлечения из сырья боярышника [46].

3.4. Листья

Самарскими учеными предложена методика количественного определения листьев боярышника кроваво-красного методом дифференциальной спектрофотометрии при 412 нм в пересчете на гиперозид с предварительной экстракцией сырья 70% этиловым спиртом [47].

Описана методика количественного определения 2"-О-рамнозид-витексина, витексина, изовитексина, рутина и гиперозида в листьях боярышника методом жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием [48].

Также существует методика количественного определения 2"-О-глюкозид витексина, 2"-О-рамнозид витексина, рутина и гиперозида в листьях боярышника методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием [49].

Группа китайских ученых количественно определяла десять компонентов: витексин-2"-рамнозид, витексин-глюкозид, витексин, гиперозид, изоквер-

цитрин, хлорогеновую кислоту, эукомовую кислоту, эпикатехин, процианидин В2 и С1 в листьях боярышника перистонадрезанного (*Crataegus pinnatifida* Vge.) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [50].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Таким образом, проведенный нами анализ и систематизация результатов исследований в области химической стандартизации сырья боярышника в фармакопеях различных стран показали, что в методиках анализа сырья видов рода Боярышник (*Crataegus* L.), включенных в отечественные и зарубежные фармакопеи, используются различные методические и методологические подходы к стандартизации плодов, цветков и листьев. Кроме того, обнаружено, что сырье одного наименования анализируется с использованием различных методик. При этом, на наш взгляд, использование в методиках различных экстрагентов не всегда обосновано с точки зрения физико-химических и спектральных характеристик анализируемых веществ. Также нами показано, что в методиках качественного и количественного анализа действующих веществ (флавоноиды, процианидины) не всегда ведется ориентация на диагностически значимые стандартные вещества.

В этой связи необходимо более глубокое изучение химического состава сырья боярышника с целью выявления диагностически значимых веществ, подбора оптимальных экстрагентов и условий экстракции, что позволит разработать научно обоснованные подходы к стандартизации и унифицировать методики анализа сырья и препаратов видов рода боярышник.

INTRODUCTION. Currently, herbal medicines are gaining popularity and are used both in the treatment and prevention of various diseases [1, 2]. This may be due to the fact that herbal medicines have a low toxicity at a sufficiently high efficiency, a wide range of therapeutic effects, a complex effect on the human body with their rational use. They are and also relatively cheap in comparison with synthetic drugs [3].

Currently, cardiovascular diseases remain the most important social and medical problem in many countries. Thus, according to the World Health Organization, cardiovascular diseases are the leading cause for death in the world, so the problems of prevention and timely treatment of this pathology acquire special urgency [4, 5]. In this regard, the drugs based on hawthorn, are of great interest [6, 7].

The reparations based on hawthorn have been used in folk medicine for a long time. The first mention of the positive effect of hawthorn on the heart refers to the first century of our era [8]. The use of hawthorn for treatment of cardiovascular diseases dates back to the late 1800s, when hawthorn was supposed to be used as an alternative therapy for the treatment of various cardiovascular diseases such as angina, hypertension, hyperlipidemia, arrhythmia, etc. [9].

The authors describe the studies on the reduction

of the cholesterol level and triglycerides in the blood of animals while using hawthorn raw materials [10, 11]. The studies on rats, mice, rabbits and cats have shown that hawthorn extract can slowly and steadily reduce blood pressure by expanding peripheral vessels [12, 13].

As for hawthorn raw materials, some authors also notify the presence of antibacterial activity against a number of microorganisms, in particular against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* [14, 15].

In addition, some sources describe the antioxidant effect of extracts from hawthorn raw materials [16, 17, 18]. Currently hawthorn attracts the attention of doctors and researchers by its cardiogenic and cardioprotective properties, which is confirmed by numerous clinical studies [19]. Thus, in 2003 a meta-analysis of randomized placebo-controlled studies of hawthorn extract (*Crataegus pinnatifida* Bunge) for treatment of patients with chronic heart failure showed the presence of a cardiovascular benefit compared with placebo [20]. A group of Chinese scientists in 2014 published a randomized, double-blind study of the use of multicomponent herbal preparation based on hawthorn in the treatment of dyslipidemia. As a result of the conducted research it was found out that this herbal preparation caused a slight decrease in plasma levels of low-density lipoproteins after a 12-week course

of treatment, without causing undesirable phenomena [21]. In 2015, a group of Iranian scientists conducted a comparative study of the effects of aerobic exercise and the use of hawthorn extract (*Crataegus oxyacantha L.*) on intracellular adhesion molecules of Type 1 and E-selectin in patients with stable angina. As a result, it was concluded that aerobic exercises and the use of *Crataegus oxyacantha L.* as additional therapy effectively reduce the risk of developing atherosclerosis and further problems connected with the cardiovascular system [22]. It is also interesting that there was a study published in 2016, in the course of which it was concluded that hawthorn leaf extract (*Crataegus azarolus L.*) stimulates antiproliferative activity, cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells HT-29 and HCT-116 [23].

In the Russian Federation, hawthorn flowers and fruits (*Crataegus L.*) are used to obtain cardiostimulant medicinal drugs [24, 25]. Abroad, medicines on the basis of hawthorn leaves and flowers have got widely spread [26, 27, 28].

On the territory of our country there are about 40 species of wild-growing hawthorns [29, 30]. Of the 12 species of hawthorn included into the current State Pharmacopoeia of the USSR, XI-th edition (GF USSR XI), 9 grow on the territory of the Russian Federation, and the fruits and flowers are the pharmacopoeial species of hawthorn raw materials in Russia [24, 25]. At the moment the quality of raw materials is regulated by the State Pharmacopoeia of the USSR of the XI-th edition, as the discussed types of hawthorn raw materials are not included into the current State Pharmacopoeia of the Russian Federation of the XIII-th edition [31, 32, 33]. The United States Pharmacopoeia of the 32-nd edition describes hawthorn raw materials, representing leaves with flowers collected from the species *Crataegus monogyna Jacq.* or *Crataegus laevigata (Poir.) DC.*, also known as *Crataegus oxyacantha L.* [27].

The European Pharmacopoeia (the 8-th edition) refers to the medicinal hawthorn raw materials the fruits of such species as *Crataegus monogyna Jacq (Lindm.)*, *C. laevigata (Poir.)* (a synonym for *C. oxyacantha L.*) and leaves with flowers of *Crataegus monogyna Jacq. (Lindm.)* or *C. laevigata (Poir.) DC.* (synonyms for *C. oxyacanthoides Thuill.*, *C. oxyacantha auct.*) and other European hawthorn species, including *C. pentagyna Waldst.*, *C. nigra Waldst.* and *C. azarolus L.* [26].

The Belarusian Pharmacopoeia includes articles from the European Pharmacopoeia on fruits, leaves with flowers, as well as some specific articles on hawthorn flowers and leaves.

The leaves of *Crataegus sanguinea Pall.* and *C. laevigata (Poir.) DC.* (synonym of *C. oxyacantha sensu Pojark.*) and the flowers of 14 species of hawthorn, including *Crataegus sanguinea Pall.*; *C. laevigata (Poir.) DC.*, *C. korolkowii L. Henry*; *C. altaica (Loud.) Lange* and others are considered to be included into Pharmacopoeia [28]. The Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan refers fruits of *Crataegus monogyna Jacq.* or *Crataegus laevigata (Poir.) DC.* (synonym for

Crataegus oxyacantha L.) to medicinal raw materials [34].

According to the literature data, hawthorn leaves, flowers and fruits are known to contain a lot of bioflavonoids, which seem to be primarily responsible for the cardiostimulant action of the plant, leading to the development and use of extracts from the hawthorn leaves and flowers in European countries. Bioflavonoids found in hawthorn include oligomeric procyanidins, vitexin, quercetin and hyperoside. The hawthorn raw materials also contain vitamin C, saponins, tannins, cardiostimulant amines (phenylethylamine, tyramine, isobutylamine, O-methoxyphenylethylamine, choline and acetylcholine), purine derivatives (adenosine, adenine, guanine, caffeine, amygdalin), triterpenic acids (ursolic acid) [35, 36, 37, 38, 39].

As a result of the research conducted by a group of Samara scientists, the dominant flavonoid vitexin was isolated from the fruits of hawthorn, and the hyperoside – from the hawthorn flowers [40].

THE AIM of the work is to analyze and systematize the research results in the field of chemical standardization of hawthorn raw materials in pharmacopoeias of different countries.

MATERIALS AND METHODS. The study was conducted with the use of the State Pharmacopoeia of the USSR (XI-th edition), the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (XIII-th edition), the European Pharmacopoeia (6-th edition), the United States Pharmacopoeia (32-nd edition), the State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus and the Republic of Kazakhstan, as well as the information and search (*PubMed*) and library databases (*eLibrary*).

RESULTS AND DISCUSSION

1. Determination of the authenticity of hawthorn raw materials

1.1. Fruits

In the section “Qualitative reactions” for the fruits of plants of the genus Hawthorne, the State Pharmacopoeia of the USSR (XI-th edition) describes a thin layer chromatography (TLC) method, which involves the detection of a hyperoside in the presence of a state standard sample (SSS) of the hyperoside in the chloroform-methyl alcohol system (8: 2). Hereby, the detection of the analytes is carried out in the ultraviolet light (UV light) at the wavelength of 360 nm. At the spot level of the hyperoside state standard sample (SSS), a strip of dark brown color should appear, then the plate is treated with a 5% alcohol solution of aluminum chloride and heated. After that the spot acquires a yellow-green fluorescence in the UV light (hyperoside) at the wavelength of 360 nm [24]. The European Pharmacopoeia (6-th edition), the State Pharmacopoeias of the Republic of Belarus and the Republic of Kazakhstan describe thin layer chromatography on a plate with a layer of silica gel P (solvent system: acidic anhydrous water-methyl ethyl ketone-ethyl acetate 10: 10: 30: 50, V / V / V / V) using a reference solution consisting of chlorogenic acid, caffeic acid, hyperoside and rutin dissolved in methanol, as a

method for the qualitative analysis of hawthorn fruits. After passing through the solvent front, the plate is dried and sprayed with a 1% solution of aminoethyl ester of diphenylboric acid in methanol and then with a 50 g / l solution of macrogol 400 in methanol.

Further, the plate is viewed in ultraviolet light at the wavelength of 365 nm. As a result of these actions the following fluorescence zones (bottom-up as Rf increases) should be visible on the plate in the case of the reference solution: a yellow-brown fluorescent zone (rutin), a light blue fluorescent zone (chlorogenic acid) and a yellowish-brown fluorescent zone (hyperoside); in the upper third of the plate a light blue fluorescent zone (caffeic acid) should be visible. In the case of the test solution, 3 zones are found on the plate. They are similar to a reference solution in location and fluorescence, these zones correspond to chlorogenic acid, hyperoside and coffee acid. Besides, there are 3 weak reddish fluorescent zones, one of which corresponds to rutin according to its location, and the other two zones are located above the hyperoside zone and below the fluorescent light blue zone of which is below the caffeic acid zone [26, 28, 34].

In our opinion, the above mentioned substances used as standard samples (chlorogenic acid, caffeic acid, hyperoside and rutin) are widely found in medicinal plants and, therefore, are not specific for hawthorn fruits. Therefore, this approach with regard to the analysis of hawthorn fruits appears to be hardly expedient.

1.2. Flowers

Flowers are represented in the State Pharmacopoeia of the USSR (XI-th edition) and Pharmacopoeia of the Republic of Belarus.

For the qualitative analysis of hawthorn flowers the State Pharmacopoeia of the USSR (XI-th edition) suggests the thin layer chromatography (TLC) method on "Siloufol" plates in the presence of a standard hyperoside sample in the system of chloroform-methyl alcohol (8: 2). Hereby the detection is carried out in ultraviolet light at the wavelength of 360 nm. At the spot level of the standard hyperoside sample a dark brown strip should appear. The plate is then treated with a 5% alcohol solution of aluminum chloride and heated. After that the spot acquires a yellow-green fluorescence

in UV light (hyperoside) at the wavelength of 360 nm [24].

In the Pharmacopeia of the Republic of Belarus, as a method of qualitative assessment of hawthorn flowers, a thin layer chromatography method is shown in the system of chloroform-methanol (80:20, v / v) with the use of hyperoside as a standard sample. The manifestation of the plate is carried out in ultraviolet light at the wavelength of 365 nm in the daylight, pretreating the plate with a solution of aluminum chloride followed by heating. In ultraviolet light a yellow-green fluorescence (hyperoside) is seen, and in the daylight it is bright yellow [28].

We consider the approach with the use of a standard hyperoside sample, which is one of the characteristic flavonoids of hawthorn flowers, objective, as it makes it possible to adequately determine the authenticity of these raw materials.

1.3. Leaves with flowers

In the US Pharmacopeia, a qualitative determination of leaves with hawthorn flowers is carried out using thin layer chromatography. As standards, a solution of rutin, chlorogenic acid, hyperoside and vitexin is used. The solvent system includes the following ingredients: ethyl acetate – water – glacial acetic acid – formic acid (10 : 2.6 : 1.1 : 1.1). The manifestation of the plate is carried out with a solution of 2-aminoethyldiphenylborate in methanol (1%), then by treatment with a solution of polyethylene glycol 4000 in methanol (5%) and then viewed in UV light [27].

Besides, the US Pharmacopeia provides a qualitative analysis of leaves with hawthorn flowers by high-performance liquid chromatography (HPLC). The reference solution consists of rutin, chlorogenic acid, hyperoside and vitexin dissolved in methanol. Solution A consists of a mixture of tetrahydrofuran, methanol and acetonitrile (92.4 : 4.2 : 3.4). Solution B consists of a 0.5% solution of phosphoric acid in water. The detection is carried out at the wavelength of 336 nm on a 4.0 mm × 10 cm column that contains 5 μm L1 filler particles. The column temperature is maintained at 25° C. Separately, equal volumes (5 μl) of the test solution and the reference solution are introduced into the chromatograph, then the retention time of the main peaks is measured. For the reference solution, the retention time is shown in Table 1.

Table 1 – Retention time of the main peaks for the reference solution

Substance	Retention time, minutes
Chlorogenic acid	0.26
Hyperoside	1.4
Vitexin	1.0
Rutin	1.16

For the test solution, the retention time of the main peaks consists of retention time for chlorogenic acid, vitexin, rutin and hyperoside corresponding to that for

the reference solution, as well as the retention time of acetylvitexin-2''-O-rhamnoside, vitexin, isovitexine and vitexin-2''-O-rhamnoside, as shown in Table 2 [27].

Table 2 – Retention time of the main peaks of the test solution

Substance	Retention time, minutes
Acetylvinixine-2''-O-rhamnoside	1.53
Vitexin	1.0
Izovitexin	0.73
Vitexin-2''-O-rhamnoside	0.67

In our opinion, this technique is rather cumbersome and difficult from the point of view of interpreting the results of the analysis, because the chromatogram of the test solution determines substances absent in the reference solution.

In the European Pharmacopoeia and Pharmacopoeia of the Republic of Belarus, in the section “Qualitative determination” of leaves with hawthorn flowers, a thin layer chromatography method is provided using a reference solution consisting of chlorogenic acid and hyperoside dissolved in methanol. The following system is used as a mobile phase: anhydrous formic acid – water – methyl ethyl ketone – ethyl acetate (10: 10: 30: 50). The manifestation is carried out by a spray – a solution consisting of a 10 g / l solution of aminoethyl ester of diphenylboric acid in methanol and then a spray of a 50 g / l solution of polyethylene glycol in methanol. After that the substance is displayed in UV light at 365 nm [26, 28].

As far as we can see, there are some disagreements regarding the analysis of leaves with hawthorn flowers, which stem from the use of different approaches to the standardization of raw materials. Consequently, the problem of the most appropriate method to be used, remains unsolved because of the characteristics of the flavonoid composition of the raw materials being examined.

1.4. Leaves

Leaves, as a kind of medicinal plant material, are described only in the Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. To determine the authenticity, in the Pharmacopoeia the following reactions are presented: with ammonium chloride (greenish-yellow staining while heating), iron (III) solution of ammonium sulfate in the presence of hydrochloric acid in butanol (red staining while heating) [28].

In our opinion, to determine the authenticity of hawthorn leaves, it is advisable to add a thin layer chromatography method using standard samples.

Summing up the results of this section, it seems to us that the analysis of the authenticity of all types of hawthorn raw materials should be carried out diagnostically on significant substances.

Thus, the qualitative analysis of the flowers with the use of hyperoside state standard sample (SSS) is objective (the State Pharmacopoeia of the USSR, XI-th edition, the State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus), the use of four standards (chlorogenic acid, coffee acid, hyperoside and rutin) to determine the authenticity of hawthorn fruits is not quite appropriate, since these substances are not specific to the discussed type of raw materials and are often found in other plants.

In our opinion, in the case of shoots (leaves with flowers) it makes sense to use a mixture of standards,

but not all the standard substances (rutin, chlorogenic acid, hyperoside and vitexin) described in the US Pharmacopoeia for determining the authenticity of the leaves with hawthorn flowers, are specific parts of the plant.

In the Belarusian Pharmacopoeia the section “Authenticity” for hawthorn leaves also needs improvement, since only qualitative reactions are insufficient to identify the authenticity of raw materials.

2. Quantification of flavonoids in hawthorn raw material

Extraction is one of the most important parameter in the quantitative determination in medicinal plants raw materials.

For the purposes of quantitative determination of hawthorn raw materials in different Pharmacopoeias, various extraction options are used. Thus, for the extraction of hawthorn fruits, the State Pharmacopoeia of the USSR, XI-th edition, offers heating with 95% alcohol for 1 hour, and the European Pharmacopoeia, the Pharmacopoeias of the Republic of Belarus and the Republic of Kazakhstan, offer 70% ethyl alcohol extraction while heating for 30 minutes.

According to the Pharmacopoeia of the Republic of Belarus, flowers are extracted with 96% ethanol while heating for 1 hour, and according to the State Pharmacopoeia of the USSR, XI-th edition, they are extracted with 95% ethanol while heating for 1 hour [28].

According to the US Pharmacopoeia, extraction of leaves with flowers is carried out with methanol for 5 hours, and according to the European and Belarusian pharmacopoeias it is done with 60% alcohol for 10 minutes [27].

According to the Belarusian Pharmacopoeia, leaves are extracted with 70% ethyl alcohol while heating for 1 hour [28].

As far as we can see, the extraction time and extractant for the same types of raw materials vary greatly, which indicates the necessity for additional studies on selection of the optimal extractant and extraction conditions. When developing a methodology for quantifying the amount of flavonoids, it is important to scientifically select the extractant, taking into account the characteristics of the phytochemical composition of raw materials.

2.1. Fruits

In accordance with the State Pharmacopoeia of the USSR, XI-th edition, the section “Quantification” includes a chromatographic-spectrophotometric method for estimating the sum of flavonoids (in terms of hyperoside). Their quantity in fruits should be at least 0.06% at the wavelength of 365 nm [24].

Quantification of fruits in the European

Pharmacopoeia and the Pharmacopoeias of the Republic of Belarus and the Republic of Kazakhstan presupposes a spectrophotometric determination of the quantity of procyanidins in terms of cyanidin chloride, which should be at least 0.06% (European Pharmacopoeia) and not less than 1.0% (Pharmacopoeias of the Republic of Belarus and the Republic of Kazakhstan), at the wavelength of 550 nm (European Pharmacopoeia) and 545 nm (Pharmacopoeias of the Republic of Belarus and the Republic of Kazakhstan).

Besides, the Pharmacopoeia of the Republic of Belarus describes the method of chromatographic spectrophotometric determination of flavonoids in terms of hyperoside, the quantity of which should be at least 0.06% at the wavelength of 365 nm in dry fruits [26, 28, 34].

As far as we can see, in the submitted normative documents various approaches to quantification of the quantity of flavonoids in hawthorn fruits are recommended. Besides, there is a difference not only in the method of determination (chromatography-spectrophotometric and spectrophotometric), but also in the choice of the quality index (the sum of flavonoids in terms of hyperoside or the sum of procyanidins).

2.2. Flowers

In the State Pharmacopoeia of the USSR, XIth edition, a chromatographic-spectrophotometric determination of the quantity of hyperoside in flowers (at least 0.5%) at the wavelength of 360 nm is given for quantification of hawthorn flowers [24].

In the Pharmacopoeia of the Republic of Belarus, a quantitative analysis of hawthorn flowers is carried out by a chromatography-spectrophotometric method, by which the quantity of a hyperoside is determined, it must be at least 0.5%, at the wavelength of 365 nm [28].

Chromato-spectrophotometric determination, in our opinion, is cumbersome, difficult to perform and is not deprived of a lack in terms of the accuracy of the method [24, 31].

2.3. Leaves with flowers

In the US Pharmacopoeia, quantification of hawthorn leaves includes the determination of C-glycosylated flavones in terms of vitexin (the quantity should be at least 0.6%), and O-glycosylated flavones in terms of hyperoside (the quantity should be at least 0.45%). Hereby the method of high-performance liquid chromatography is used. The detection for the determination of C-glycosylated flavons is carried out on a 4 mm x 10 cm column at the wavelength of 336 nm and a flow rate of about 1.0 ml per minute. In the determination of O-glycosylated flavons (the term is taken from the Pharmacopoeia of the USA, but here it is a matter of flavonols), the detection is carried out on a 4.6 mm x 25 cm column at the wavelength of 370 nm with a flow rate of 1.5 ml per minute [27].

Quantification of target substances in leaves with flowers according to the European Pharmacopoeia and the Pharmacopoeia of the Republic of Belarus includes spectrophotometric determination of the quantity of

the sum of flavonoids in terms of hyperoside. In raw materials their quantity should be not less than 1.5% at the wavelength of 405 nm (European Pharmacopoeia) and 410 nm (the Pharmacopoeia of the Republic of Belarus) [26, 28].

Apparently, in this case an further investigation is necessary for compliance with the choice of the analytical wavelength characteristic of the substances containing in raw materials.

2.4. Leaves

In the Pharmacopoeia of the Republic of Belarus, for quantification of active substances in hawthorn leaves, spectrophotometric determination of the quantity of flavonoids in terms of rutin (not less than 0.25%) at the wavelength of 409 nm, and spectrophotometric determination of the amount of procyanidins in terms of cyanidin chloride (not less than 5.0%) at the wavelength of 550 nm [28].

In our opinion, the conclusions regarding the objectivity of this methodology can be made only after a deep study of the chemical composition of this type of raw materials.

3. Methods for analyzing the raw material of hawthorn, proposed by individual authors

3.1. Fruits

Some literature shows a procedure for the quantification of procyanidins in hawthorn fruits using modified Porter's method. According to this method, extraction of hawthorn fruits is carried out with 70% ethanol, then an acid solution of butanol and an iron reagent (for acidic cleavage of procyanidins to anthocyanins) are added to the extract. After that the optical density of the solution is measured by a spectrophotometer at the wavelength of 550 nm [41].

Samara scientists proposed a technique for analyzing the contents of the sum of hawthorn fruits flavonoids with preliminary extraction on the basis of 70% ethyl alcohol in terms of hyperoside using differential spectrophotometry at the wavelength of 412 nm [42].

3.2. Flowers

For hawthorn flowers, a method was proposed for quantifying the amount of flavonoids in terms of hyperoside by differential spectrophotometry at the wavelength of 412 nm and preliminary extraction on the basis of 70% ethyl alcohol [43].

3.3. Leaves with flowers

A method for determining the authenticity of leaves with hawthorn flowers was developed by thin layer chromatography in a mobile phase: ethyl acetate – acetic acid – water (5: 1: 1) in the presence of witness solutions of: rutin, vitexin, chlorogenic acid, hyperoside [44]. In addition, methods for qualitative and quantitative determination of vitexin, rutin, hyperoside and quercetin in raw leaves with hawthorn flowers was proposed by high performance liquid chromatography (HPLC) with spectrophotometric detection after preliminary extraction with 70% ethanol [45].

Foreign scientists have also developed a procedure for quantification of procyanidins in leaves with haw-

thorn flowers by the method of ultra-efficient liquid chromatography with fluorometric detection with preliminary preparation of water-acetone extraction from hawthorn raw materials [46].

3.4. Leaves

Samara scientists have proposed a method for quantification of hawthorn blood-red leaves by differential spectrophotometry at 412 nm in terms of hyperoside with preliminary extraction of raw material with 70% ethyl alcohol [47].

A procedure for quantification of 2''-O-rhamnoside-vitexin, vitexin, isovitexine, rutin and hyperoside in hawthorn leaves is described by liquid chromatography with ultraviolet detection [48].

There is also methods for quantification of 2''-O-glucoside vitexin, 2''-O-rhamnoside vitexin, rutin and hyperoside in hawthorn leaves by reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection [49].

A group of Chinese scientists has quantified ten components: vitexin-2''-ramnoside, vitexin-glucoside, vitexin, hyperoside, isoquercitrine, chlorogenic acid, eucomic acid, epicatechin, procyanidin B2 and C1 in the leaves of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge.) by method of high-performance liquid chromatography [50].

CONCLUSION. Thus, our analysis and system-

atization of the research results in the field of chemical standardization of hawthorn raw materials in Pharmacopoeias of various countries showed that the methods used to analyze the raw materials of the species of the genus Hawthorn (*Crataegus* L.), included into domestic and foreign Pharmacopoeias, various methodical and methodological approaches to standardization of fruits, flowers and leaves are used.

In addition, it was found out that raw materials of the same naming unit are analyzed by a variety of techniques. In our opinion, the use of various extractants in the methods is not always justified from the point of view of the physico-chemical and spectral characteristics of the substances being analyzed. We have also shown that in the methods of qualitative and quantitative analysis of active substances (flavonoids, procyanidins), the orientation to diagnostically significant standard substances is not always conducted.

In this regard, a deeper study of the chemical composition of the hawthorn raw materials is necessary in order to identify significant substances diagnostically, to select optimal extractants and extraction conditions, which will make it possible to develop scientifically validated approaches to standardization and to unify the methods of analysis of raw materials and preparations of hawthorn species.

Библиографический список

1. Martins Ekor. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety // *Frontiers in Pharmacology*. 2013. No 4. P. 177. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3887317/> (дата обращения: 24.01.2018). DOI: 10.3389/fphar.2013.00177
2. Pal S.K., Shukla Y. Herbal medicine: current status and the future // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2003. No 4(4). P. 281-288. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14728584> (дата обращения: 24.01.2018)
3. Самбукова Т.В., Овчинников Б.В., Ганопольский В.П., Ятманов А.Н., Шабанов П.Д. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2017. Т. 15. № 2. С. 56–63. DOI: 10.17816/RCF15256-63
4. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs) URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/> (дата обращения: 24.01.2018)
5. Басырова И.Р., Либис Р.А. Распространенность основных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний и их комбинаций у жителей города Оренбурга // *Аспирантский вестник Поволжья*. 2017. № 1–2. С. 48–53.
6. Самылина И.А., Сорокина А.А., Пятигорская Н.В. Боярышник (*Crataegus*): возможности медицинского применения // *Фарматека*. 2010. № 8. С. 83–85.
7. Rastogi S., Pandey M.M., Rawat A.K. Traditional herbs: a remedy for cardiovascular disorders // *Phytomedicine*. 2016. No 23(11). P. 1082–1089. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26656228> (дата обращения: 24.01.2018). DOI: 10.1016/j.phymed.2015.10.012
8. Zorniak M., Szydło B., Krzeminski T.F. *Crataegus* special extract WS 1442: up-to-date review of experimental and clinical experiences // *Journal of physiology and pharmacology*. 2017. No 68 (4). P. 521–526. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29151068> (дата обращения: 24.01.2018)
9. JieWang, Xingjiang Xiong, Bo Feng. Effect of *Crataegus* Usage in Cardiovascular Disease Prevention: An Evidence-Based Approach // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/149363/> (дата обращения: 24.01.2018). DOI: 10.1155/2013/149363
10. Liu X.Y., Zhou L., Liang R.Y. Study on lipid regulation mechanism of total flavonoids from folium *Crataegi* by 3T3-L1 cells // *Chin. Arch. Tradit. Chin. Med*. 2009. No. 27. P. 1066–1068.
11. Yang R.M., Chen H.M., Gao N.N., Song X., Li J.L., Cai D.Y. Mechanism of early atherosclerosis in guinea pig: abnormal metabolism of LDL-C // *Acta Lab. Anim. Sci. Sin*. 2011. Vol. 23. P. 237–241.
12. Yang X.P. Medicinal value of *Crataegus pinnatifida* // *Jilin Med. J*. 1998. Vol. 19. P. 41.
13. Yuan Y., Zhao J., Gao H.J., Wang J.H. Experimental study on effect of hawthorn on compounding hypertension and hyperlipidemia rats // *J. Xinjiang Med. Univ*. 2013. Vol. 35. P. 52–27.

14. Li C.Q., Wu W., Tong Y. Study on germicidal efficacy of extract of hawthorn fruit pit and its influencing factors // Chin. J. Disinfect. 2007. Vol. 24. P. 50–52.
15. Lin L., Chen Y.J., Li L., Cao Y., Sun Q.X. Experimental observation on germicidal efficacy of hawthorn liquid and its influencing factors // Chin. J. Disinfect. 2000. Vol. 17. P. 85–88.
16. Li L., Lv H., Pang H. Anti-aging effect of total flavone of hawthorn leaf // Lishizhen Med. Mater. Med. Res. 2007. Vol. 9. P. 2143–2144.
17. Ji Y.S., Li H., Yang S.J. Protective effect and its molecular mechanism of FMCL on PC 12 cells apoptosis induced by H₂O₂ // Chin. Pharmacol. Bull. 2006. Vol. 22. P. 760–762.
18. Chen Z.Y., Yan M.X., He B.H. The Change and the impact of IFHL on oxidative stress in the formation of NASH in rats // J. Med. Res. 2007. Vol. 36. P. 33–36.
19. Wang C.L., Lu B.Z., Hou G.L. Chemical constituent, pharmacological effects and clinical application of *Crataegus pinnatifida* // Strait Pharm. J. 2010. Vol. 3. P. 75–78.
20. Pittler M.H., Schmidt K., Ernst E. Hawthorn extract for treating chronic heart failure: meta-analysis of randomized trials // American Journal of Medicine. 2003. No. 114(8). P. 665–674. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12798455> (дата обращения: 24.01.2018)
21. Hu M., Zeng W., Tomlinson B. Evaluation of a crataegus-based multiherb formula for dyslipidemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2014. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4009229/> (дата обращения: 24.01.2018). DOI: 10.1155/2014/365742
22. Jalaly L., Sharifi G., Faramarzi M., Nematollahi A., Rafieian-kopaei M., Amiri M., Moattar F. Comparison of the effects of *Crataegus oxyacantha* extract, aerobic exercise and their combination on the serum levels of ICAM-1 and E-Selectin in patients with stable angina pectoris // DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. 2015. No. 23. P. 54. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4684934/> (дата обращения: 24.01.2018). DOI: 10.1186/s40199-015-0137-2
23. Mustapha N., Pinon A., Limami Y., Simon A., Ghedira K., Hennebelle T., Chekir-Ghedira L. *Crataegus azarolus* Leaves Induce Antiproliferative Activity, Cell Cycle Arrest, and Apoptosis in Human HT-29 and HCT-116 Colorectal Cancer Cells // Journal of Cellular Biochemistry. 2016. No 117(5). P. 1262–1272. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26495895> (дата обращения: 24.01.2018). DOI: 10.1002/jcb.25416
24. Государственная фармакопея СССР. 11-е издание. Вып. 2. М.: Медицина, 1990. 400 с.
25. Куркин В.А., Морозова Т.В., Правдивцева О.Е. Исследование по разработке методики стандартизации листьев боярышника кроваво-красного // Химия растительного сырья. 2017. № 3. С 169–173.
26. European Pharmacopoeia. 8 ed. Strasbourg: Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe, 2013.
27. 32 United States Pharmacopeia. URL: http://www.uspbpep.com/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_m36580.html
28. Государственная фармакопея Республики Беларусь. 1-е издание. Том 2. Министерство здравоохранения Республики Беларусь: Минск, 2007. 471 с.
29. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР. М.: ГУГК, 1980. С. 242–243.
30. Силаева Т.Б., Агеева А.М., Кирюхин И.В., Матвиенко И.И. О боярышниках (*Crataegus* L.) в Республике Мордовия // Фиторазнообразии Восточной Европы. 2007. №4. С. 216–218.
31. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Т. 1. М., 2015. 1470 с.
32. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Т. 2. М., 2015. 1004 с.
33. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Т. 3. М., 2015. 1294 с.
34. Государственная фармакопея Республики Казахстан. 1-е издание. Том 2. Министерство здравоохранения Республики Казахстан: Астана, 2009. 803 с.
35. Куркин В.А., Куркина А.В., Правдивцева О.Е., Морозова Т.В. Изучение химического состава препаратов на основе сырья боярышника // Материалы IX международного симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты», Москва. 2015. С. 578–581.
36. Dinesh Kumar, Vikrant Arya, Zulfiqar Ali Bhat, Nisar Ahmad Khan, Deo Nandan Prasad. The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives // Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy. 2012. No. 22(5). P. 1187–1200. URL: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v22n5/aop05712.pdf> (дата обращения: 24.01.2018).
37. Jiaqi Wu, Wei Peng, Rongxin Qin, Hong Zhou. *Crataegus pinnatifida*: Chemical Constituents, Pharmacology, and Potential Applications // Molecules. 2014. No. 19(2). P. 1685–1712. URL: <http://www.mdpi.com/1420-3049/19/2/1685> (дата обращения: 24.01.2018). DOI: 10.3390/molecules19021685
38. Seyed Fazel Nabavi, Solomon Nabtemariam, Touqeer Ahmed, Antoni Sureda, Maria Daglia, Eduardo Sobarzo-Sánchez, Seyed Mohammad Nabavi. Polyphenolic Composition of *Crataegus monogyna* Jacq.: From Chemistry to Medical Applications // Nutrients. 2015. No. 7. P. 7708–7728. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26378574> (дата обращения: 24.01.2018). DOI: 10.3390/nu7095361

39. Wu S.J., Li Q.J., Xiao X.F., Li M., Yang X.R., Lv T. The research of chemical constituent and pharmacological effects of *Crataegus pinnatifida* // *Drug Eval. Res.* 2010. Vol. 4. P. 316–319.
40. Kurkina A.V., Pravdivtseva O.E., Kurkin V.A., Dubishchev A.V. Pharmacological activity of flavonoid-containing plants. *Internationaler medizinischer Kongress* // Hannover. 2006, pp. 37–38.
41. Хишова О.М., Бузук Г.Н. Количественное определение процианидинов плодов боярышника // *Химико-фармацевтический журнал.* 2006. Т. 40. № 2. С. 20–21.
42. Куркина А.В. Определение содержания суммы флавоноидов в плодах боярышника // *Химико-фармацевтический журнал.* 2014. Т. 48. № 12. С. 27–30.
43. Куркина А.В. Новые подходы к стандартизации цветков боярышника // *Химия растительного сырья.* 2013. № 2. С. 171–176. DOI: 10.14258/jcprm.1302171
44. Сагарадзе В.А., Бабаева Е.Ю., Каленикова Е.И. Установление подлинности перспективного вида лекарственного сырья – цветков с листьями боярышника // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2017. № 2. С. 26–31.
45. Сагарадзе В.А., Бабаева Е.Ю., Каленикова Е.И. Определение флавоноидов в цветках с листьями боярышника методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием // *Химико-фармацевтический журнал.* 2017. № 4. С. 30–34.
46. Hellenbrand N., Sendker J., Lechtenberg M., Petereit F., Hensel A. Isolation and quantification of oligomeric and polymeric procyanidins in leaves and flowers of Hawthorn (*Crataegus* spp.). *Fitoterapia.* 2015. No. 104. P. 14–22. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25917901> (дата обращения: 24.01.2018). DOI: 10.1016/j.fitote.2015.04.010
47. Куркин В.А., Морозова Т.В., Правдивцева О.Е. Исследование по разработке стандартизации листьев боярышника кроваво-красного // *Химия растительного сырья.* 2017. № 3. С. 169–173.
48. Mudge E.M., Liu Y., Lund J.A., Brown P.N. Single-laboratory validation for the determination of flavonoids in hawthorn leaves and finished products by LC-UV // *Planta Med.* 2016. No. 82(17). P. 1487–1492. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27776376> (дата обращения: 24.01.2018).
49. Cheng S., Qiu F., Huang J., He J. Simultaneous determination of vitexin-2''-O-glucoside, vitexin-2''-O-rhamnoside, rutin, and hyperoside in the extract of hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge.) leaves by RP-HPLC with ultraviolet photodiode array detection // *Journal of Separation Science.* 2007. No. 30(5). P. 717–721.
50. Zhe Gao, Ya-Nan Jia, Tian-Yuan Cui, Zhe Han, Ai-Xia Qin, Xiao-Hu Kang, Yu-Lei Pan, Tong Cui. Quantification of ten polyphenols in the leaves of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge. var. major N.E. Br.) by HPLC // *Asian Journal of Chemistry.* 2013. Vol. 25. No. 18. P. 10344–10348.

References

1. Martins Ekor. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in Pharmacology* [Internet]. 2013;4:177 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3887317/> DOI: 10.3389/fphar.2013.00177
2. Pal SK, Shukla Y. Herbal medicine: current status and the future. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* [Internet]. 2003 Aug-Dec;4(4):281-8 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14728584>
3. Sambukova TV, Ovchinnikov BV, Ganapolskii VP, Yatmanov AN, Shabanov PD. Perspektivy ispol'zovaniya fitopreparatov v sovremennoj farmakologii [Prospects for phytopreparations (Botanicals) use in modern pharmacology]. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2017;15(2):56-63. DOI: 10.17816/RCF15256-63. Russian.
4. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs). [Internet]. [cited 2018 Jan 24]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
5. Basyrova IR, Libis RA. Rasprostranennost' osnovnykh faktorov riska serdechno-sosudistykh zabolevanij i ih kombinacij u zhitelej goroda Orenburga [The prevalence of major cardiovascular risk factors and their combinations in residents of Orenburg city]. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya.* 2017;1-2:48-53. Russian.
6. Samylina IA, Sorokina AA, Pyatigorskaya NV. Boyaryshnik (*Crataegus*): vozmozhnosti medicinskogo primeneniya [Hawthorn (*Crataegus*): the possibilities of medical use]. *Pharmateca.* 2010;8:83-5. Russian.
7. Rastogi S, Pandey MM, Rawat AK. Traditional herbs: a remedy for cardiovascular disorders. *Phytomedicine.* [Internet]. 2016 Oct 15;23(11):1082-9 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26656228>. DOI: 10.1016/j.phymed.2015.10.012
8. Zorniak M, Szydio B, Krzeminski TF. *Crataegus* special extract WS 1442: up-to-date review of experimental and clinical experiences. *Journal of physiology and pharmacology.* [Internet]. 2017 Aug;68(4):521-6 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29151068>
9. JieWang, Xingjiang Xiong, Bo Feng. Effect of *Crataegus* Usage in Cardiovascular Disease Prevention: An Evidence-Based Approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* [Internet]. 2013 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/149363/>. DOI: 10.1155/2013/149363
10. Liu XY, Zhou L, Liang RY. Study on lipid regulation mechanism of total flavonoids from folium *Crataegi* by 3T3-L1 cells. *Chin. Arch. Tradit. Chin. Med.* 2009;27:1066–8.

11. Yang RM, Chen HM, Gao NN, Song X, Li JL, Cai DY. Mechanism of early atherosclerosis in guinea pig: abnormal metabolism of LDL-C. *Acta Lab. Anim. Sci. Sin.* 2011;23:237–41.
12. Yang XP. Medicinal value of *Crataegus pinnatifida*. *Jilin Med. J.* 1998;19:41.
13. Yuan Y, Zhao J, Gao HJ, Wang JH. Experimental study on effect of hawthorn on compounding hypertension and hyperlipidemia rats. *J. Xinjiang Med. Univ.* 2013;35:52–27.
14. Li CQ, Wu W, Tong Y. Study on germicidal efficacy of extract of hawthorn fruit pit and its influencing factors. *Chin. J. Disinfect.* 2007;24:50–2.
15. Lin L, Chen YJ, Li L, Cao Y, Sun QX. Experimental observation on germicidal efficacy of hawthorn liquid and its influencing factors. *Chin. J. Disinfect.* 2000;17:85–8.
16. Li L, Lv H, Pang H. Anti-aging effect of total flavone of hawthorn leaf. *Lishizhen Med. Mater. Med. Res.* 2007;9:2143–4.
17. Ji YS, Li H, Yang SJ. Protective effect and its molecular mechanism of FMCL on PC 12 cells apoptosis induced by H₂O₂. *Chin. Pharmacol. Bull.* 2006;22:760–2.
18. Chen ZY, Yan MX, He BH. The Change and the impact of IFHL on oxidative stress in the formation of NASH in rats. *J. Med. Res.* 2007;36:33–6.
19. Wang CL, Lu BZ, Hou GL. Chemical constituent, pharmacological effects and clinical application of *Crataegus pinnatifida*. *Strait Pharm. J.* 2010;3:75–8.
20. Pittler MH, Schmidt K, Ernst E. Hawthorn extract for treating chronic heart failure: meta-analysis of randomized trials. *American Journal of Medicine.* [Internet]. 2003 Jun 1;114(8):665-74 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12798455>
21. Hu M, Zeng W, Tomlinson B. Evaluation of a crataegus-based multiherb formula for dyslipidemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* [Internet]. 2014 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4009229/>. DOI: 10.1155/2014/365742
22. Jalaly L, Sharifi G, Faramarzi M, Nematollahi A, Rafieian-kopaei M, Amiri M, Moattar F. Comparison of the effects of *Crataegus oxyacantha* extract, aerobic exercise and their combination on the serum levels of ICAM-1 and E-Selectin in patients with stable angina pectoris. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences.* [Internet]. 2015;23:54 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4684934/>. DOI: 10.1186/s40199-015-0137-2
23. Mustapha N, Pinon A, Limami Y, Simon A, Ghedira K, Hennebelle T, Chekir-Ghedira L. *Crataegus azarolus* Leaves Induce Antiproliferative Activity, Cell Cycle Arrest, and Apoptosis in Human HT-29 and HCT-116 Colorectal Cancer Cells. *Journal of Cellular Biochemistry.* [Internet]. 2016 May;117(5):1262-72. [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26495895>. DOI: 10.1002/jcb.25416
24. Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR [State Pharmacopoeia of the USSR]. 11th edition. Is. 2. Moskva: Medicina; 1990. 400 p. Russian.
25. Kurkin VA, Morozova TV, Pravdivtseva OE. Issledovanie po razrabotke metodiki standartizacii list'ev boyaryshnika krovavo-krasnogo [Studies on the development of the methodic of standardization of leaves of *Crataegus sanguinea* Pall.]. *Chemistry of plant raw materials.* 2017;3:169-79. Russian.
26. European Pharmacopoeia. 8 ed. Strasbourg: Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe, 2013.
27. 32 United States Pharmacopoeia. URL: http://www.uspbpep.com/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_m36580.html
28. Gosudarstvennaya farmakopeya Respubliki Belarus' [State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus]. 1st edition. Vol. 2. Ministerstvo zdavoohraneniya Respubliki Belarus': Minsk; 2007. 471 p. Russian.
29. Atlas arealov i resursov lekarstvennyh rastenij SSSR [Atlas of areals and resources of medicinal plants of the USSR]. Moskva: GUGK; 1980:242-3. Russian.
30. Silaeva TB, Ageeva AM, Kiryuhin IV, Matvienko II. O boyaryshnikah (*Crataegus* L.) v Respublike Mordoviya [About hawthorn (*Crataegus* L.) in the Republic of Mordovia]. *Phytodiversity of Eastern Europe.* 2007;4:216-8. Russian.
31. Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossijskoj Federacii [State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. 13th edition. Vol. 1. Moskva; 2015. 1470 p. Russian.
32. Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossijskoj Federacii [State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. 13th edition. Vol. 2. Moskva; 2015. 1004 p. Russian.
33. Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossijskoj Federacii [State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. 13th edition. Vol. 3. Moskva; 2015. 1294 p. Russian.
34. Gosudarstvennaya farmakopeya Respubliki Kazahstan [State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan]. 1st edition. Vol. 2. Ministerstvo zdavoohraneniya Respubliki Kazahstan: Astana; 2009. 803 p. Russian.
35. Kurkin VA, Kurkina AV, Pravdivceva OE, Morozova TV. Izuchenie himicheskogo sostava preparatov na osnove syr'ya boyaryshnika [The study of the chemical composition of preparations based on the raw material of

- hawthorn]. Materialy IX mezhdunarodnogo simpoziuma «Fenol'nye soedineniya: fundamental'nye i prikladnye aspekty», Moskva. 2015:578-81. Russian.
36. Dinesh Kumar, Vikrant Arya, Zulfiqar Ali Bhat, Nisar Ahmad Khan, Deo Nandan Prasad. The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*. [Internet]. 2012;22(5):1187-200 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v22n5/aop05712.pdf>
 37. Jiaqi Wu, Wei Peng, Rongxin Qin, Hong Zhou. *Crataegus pinnatifida*: Chemical Constituents, Pharmacology, and Potential Applications. *Molecules*. [Internet]. 2014;19(2):1685-712 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <http://www.mdpi.com/1420-3049/19/2/1685>. DOI: 10.3390/molecules19021685
 38. Seyed Fazel Nabavi, Solomon Habtemariam, Touqeer Ahmed, Antoni Sureda, Maria Daglia, Eduardo Sobarzo-Sánchez, Seyed Mohammad Nabavi. Polyphenolic Composition of *Crataegus monogyna* Jacq.: From Chemistry to Medical Applications. *Nutrients*. [Internet]. 2015 Sep 11;7(9):7708-28 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26378574>. DOI: 10.3390/nu7095361
 39. Wu SJ, Li QJ, Xiao XF, Li M, Yang XR, Lv T. The research of chemical constituent and pharmacological effects of *Crataegus pinnatifida*. *Drug Eval. Res.* 2010;4:316-9.
 40. Kurkina AV, Pravdivtseva OE, Kurkin VA, Dubishchev AV. Pharmacological activity of flavonoid-containing plants. *Internationaler medizinischer Kongress. Hannover.* 2006:37-38.
 41. Khishova OM, Buzuk GN. Kolichestvennoe opredelenie procianidinov plodov boyaryshnika [Quantitative determination of procyanidins in hawthorn fruits]. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2006;40(2):20-1. Russian.
 42. Kurkina AV. Opredelenie sodержaniya summy flavonoidov v plodah boyaryshnika [Determination of total flavonoids in hawthorn fruits]. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2014;48(12):27-30. Russian.
 43. Kurkina AV. Novye podhody k standartizacii cvetkov boyaryshnika [The new approaches to the standardization of *Crataegus* flowers]. *Chemistry of plant raw materials.* 2013;2:171-6. DOI: 10.14258/jcprm.1302171. Russian.
 44. Sagaradze VA, Babaeva EYu, Kalenikova EI. Ustanovlenie podlinnosti perspektivnogo vida lekarstvennogo syr'ya – cvetkov s list'yami boyaryshnika [Establishment of the authenticity of the perspective species of medicinal raw materials - flowers with hawthorn leaves]. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry.* 2017;2:26-31. Russian.
 45. Sagaradze VA, Babaeva EYu, Kalenikova EI. Opredelenie flavonoidov v cvetkah s list'yami boyaryshnika metodom VEZHKh so spektrofotometricheskim detektirovaniem [Determination of flavonoids in flowers with hawthorn leaves by HPLC method with spectrophotometric detection]. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2017;4:30-4. Russian.
 46. Hellenbrand N, Sendker J, Lechtenberg M, Petereit F, Hensel A. Isolation and quantification of oligomeric and polymeric procyanidins in leaves and flowers of Hawthorn (*Crataegus* spp.). *Fitoterapia.* [Internet]. 2015 Jul;104:14-22 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25917901>. DOI: 10.1016/j.fitote.2015.04.010
 47. Kurkin VA, Morozova TV, Pravdivtseva OE. Issledovanie po razrabotke standartizacii list'ev boyaryshnika krova-vo-krasnogo [The study on the development of the standardization of hawthorn leaves blood-red]. *Chemistry of plant raw materials.* 2017;3:169-73. Russian.
 48. Mudge EM, Liu Y, Lund JA, Brown PN. Single-laboratory validation for the determination of flavonoids in hawthorn leaves and finished products by LC-UV // *Planta Med.* [Internet]. 2016 Nov;82(17):1487-1492 [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27776376>
 49. Cheng S, Qiu F, Huang J, He J. Simultaneous determination of vitexin-2''-O-glucoside, vitexin-2''-O-rhamnoside, rutin, and hyperoside in the extract of hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge.) leaves by RP-HPLC with ultraviolet photodiode array detection. *Journal of Separation Science.* 2007;30(5):717-21.
 50. Zhe Gao, Ya-Nan Jia, Tian-Yuan Cui, Zhe Han, Ai-Xia Qin, Xiao-Hu Kang, Yu-Lei Pan, Tong Cui. Quantification of ten polyphenols in the leaves of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge. var. major N.E. Br.) by HPLC. *Asian Journal of Chemistry.* 2013;25(18):10344-8.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Морозова Татьяна Владимировна – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фармакогнозия, фитохимия. E-mail: tanyfrost@mail.ru

Morozova Tatyana Vladimirovna – postgraduate student of the pharmacognosy department with botany and the basics of herbal medicine, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "Samara State Medical University". Research interests: pharmacognosy, phytochemistry. E-mail: tanyfrost@mail.ru

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фармакогнозия, фитохимия, флавоноиды. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru.

Правдивцева Ольга Евгеньевна – доктор фармацевтических наук, доцент, ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фармакогнозия, фитохимия, флавоноиды. E-mail: pravdivtheva@mail.ru.

Kurkin Vladimir Aleksandrovich – PhD (Pharmacy), Professor, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education “Samara State Medical University”. Research interests: pharmacognosy, phytochemistry, flavonoids. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru.

Pravdivtseva Olga Evgenievna – PhD (Pharmacy), docent, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education “Samara State Medical University”. Research interests: pharmacognosy, phytochemistry, flavonoids. E-mail: pravdivtheva@mail.ru.

Поступила в редакцию: 18.01.2018
Отправлена на доработку: 19.01.2018
Принята к печати: 02.04.2018

Received: 18.01.2018
Sent back for revision: 19.01.2018
Accepted for publication: 02.04.2018
